

تصميم مثبطات محتملة للبروتين XIAP المضاد للموت الخلوي باستخدام النمذجة الجزيئية

الدكتور فادن سليمان *

لؤي بلال **

(تاريخ الإيداع ٢٧/١٠/٢٠٢٤ - تاريخ النشر ٣/٦/٢٠٢٥)

□ ملخص □

يشكل XIAP فرداً من عائلة البروتينات المثبطة للموت الخلوي، تأتي أهمية هذا البروتين من أدواره الحيوية المهمة المتعلقة بسبل الموت الخلوي بالإضافة لتورطه في نشوء العديد من الأمراض السرطانية مثل سرطان الثدي وسرطان الرئة. يهدف هذه البحث لإيجاد مثبطات محتملة للبروتين XIAP وذلك باستخدام دراسة النمذجة الجزيئية، تم تصميم مكتبة من المركبات الكيميائية مشتقة من بنية مثبطات سابقة للبروتين، تم إجراء دراسة الإرساء لهذه المركبات ضمن منطقة BIR3 للبروتين XIAP. تم تحديد إلفة وطريقة ارتباط المركبات المدروسة ضمن الجيب الفعال المحضر للبروتين.

أفضت الدراسة إلى اكتشاف أحد عشر مركباً مع إلفة ارتباط عالية؛ تتألف تلك المركبات من حلقتين يفصل بينهما ذراع وصل مؤلف من ثمان ذرات. تمت دراسة الخواص المشابهة للأدوية لتلك المركبات عن طريق دراسة مدى تطابق المركبات مع قواعد ليبينسكي وفيرر، سمحت الدراسة باختيار خمس أفضل مركبات ليتم ترشيحها لاستكمال الدراسات اللاحقة عليها.

الكلمات المفتاحية: الموت الخلوي، النمذجة الجزيئية، الإرساء، الشكل البلوري، قواعد ليبينسكي وفيرر.

*مدرس - قسم الكيمياء الصيدلانية والمراقبة الدوائية - كلية الصيدلة - جامعة طرطوس - طرطوس - سوريا.

** باحث - حامل لشهادة الماجستير في علم تأثير الأدوية - كلية الصيدلة - جامعة طرطوس - طرطوس - سوريا.

Design of potential Inhibitors of Antiapoptotic protein XIAP using molecular modeling

Dr. Faten Sliman*

Loay Bilal**

(Received 27/10/2024.Accepted 3/6/2025)

□ABSTRACT □

XIAP is a member of the Anti-apoptotic IAP family proteins. It plays essential roles related to different cell death pathways, in addition to its involvement in cancer diseases development; including breast and lung cancer. This work aims to discover potential inhibitors of the XIAP protein using molecular modeling study. A new library of chemical compounds was designed based upon the structure of previous inhibitors; docking study of these compounds was effectuated within the BIR3 domain of XIAP protein. Binding affinity and mode of fixation of these compounds were determined within the prepared active pocket of the protein.

The study led to the discovery of 11 compounds with high binding affinity; these molecules consist of two rings separated by an eight-atom linker. We have completed the research by Drug-Likeness Properties study according to Lipinski and Weber's rules, the study led to discover five top hits for further later studies.

Keyword: Apoptosis, Molecular modelling, docking, crystal structure, Lipinski & Veber Rules.

*PhD Lecturer, Department of Pharmaceutical Chemistry & Quality Control, Faculty of Pharmacy, Tartous University, Tartous, Syria. Email: Fatensliman@tartous-univ.edu.sy

**Researcher, Master's graduated in Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Tartous University, Tartous, Syria.

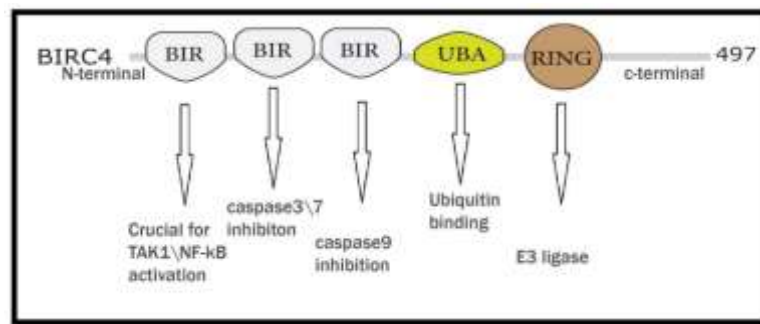
١-المقدمة

تعد بروتينات عائلة IAPs (Inhibitors of Apoptosis Proteins) من البروتينات الهامة التي تساهم في تنظيم العديد من العمليات وطرق الإشارة ضمن الخلايا، تم اكتشاف هذه العائلة لأول مرة لدى دراسة فيروسات baculiviruses عام ١٩٩٣، حيث أبدت تلك الفيروسات اعتمادها على تلك البروتينات في تثبيط الموت الخلوي الحاصل لدى خلايا الحشرات المصابة. تتعدد وظائف بروتينات العائلة ولكنها بشكل عام تشارك في تنظيم الاستجابة المناعية والموت الخلوي المبرمج ومنها أطلق عليها البروتينات المضادة للموت الخلوي.

تتألف عائلة IAPs من ثمانية أعضاء (NIAP, c-IAP1, c-IAP2, XIAP, TIAP, Apollon,) (X-chromosome-linked Inhibitors of Apoptosis) XIAP. احتل بروتين (ML-IAP & ILP2) (Protein) اهتمام العديد من الباحثين نظراً لأدواره الحيوية المهمة والمتعلقة بالموت الخلوي والالتهاب والهجرة الخلوية. يشارك XIAP في سبيل الموت الخلوي الداخلي والخارجي وذلك عبر عدة طرق؛ فعلى سبيل المثال يقوم البروتين بالارتباط مع MDM2 الرابط للبروتين الكابح للورم P53 السيتوبلازمي مما يمنع عنه تثبيط أو تنشيط لقتل الخلية وذلك حسب الظروف المحيطة بالخلية (وجود عوامل نمو أو نقص المغذيات على الترتيب). من ناحية أخرى يقوم البروتين بالتداخل المباشر مع إحدى أنزيمات الكاسباز Caspase-3 و Caspase-7 و Caspase-9، ينتج عن تلك التداخلات تثبيط تفعيل شلال الكاسباز ومنه إيقاف الموت الخلوي.

يتكون بروتين XIAP من خمسة مناطق رئيسية ممتدة من الطرف N حتى الطرف C (الشكل ١)؛ يقوم BIR1 بتنظيم عمل NF- κ B كما يشبط BIR2 أنزيمات الكاسباز ٣ و ٧ بعد التداخل معها بينما يتداخل BIR3 بشكل مباشر مع الكاسباز ٩ (Caspase 9) مانعاً الأخير من القيام بدوره في عملية الموت الخلوي، وأخيراً تمتلك المنطقتان UBA, RING القدرة على الارتباط وتنشيط تحلل وتدرج ركائزه عن طريق أنزيم E3 Ligase.

الشكل ١: مخطط يوضح أجزاء البروتين XIAP مع ركائزه الخلوية.

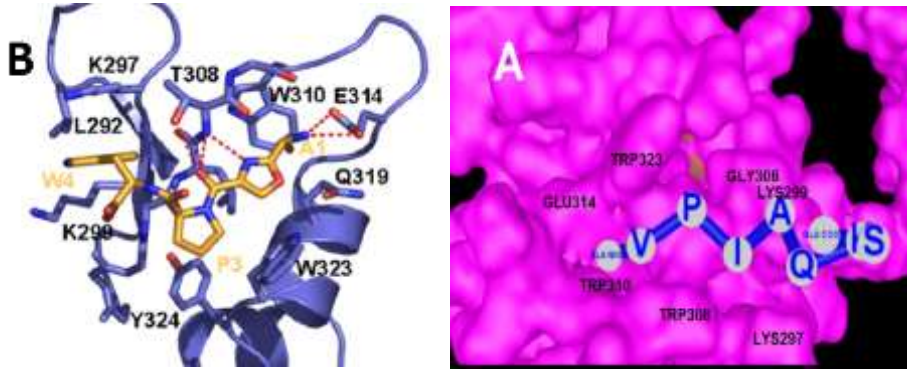


يؤدي حدوث أذية في DNA الخلية إلى تحرر السيتوكروم C و Procaspase من الميتوكوندريا مما يسمح بتنشيط شلال الكاسباز ٩ وتحريض الموت الخلوي؛ تتم تلك العملية بعدة طرق من بينها تنشيط البيبتيد SMAC الذي يقوم بدوره بإعاقة وظيفة XIAP كمشبط للكاسباز ٩. يسمح الارتباط المباشر بين XIAP والكاسباز ٩ في تعطيل عمل الأخير المحرض للموت الخلوي. تمت ملاحظة فرط التعبير عن البروتين XIAP

مع تخطي للموت الخلوي بالإضافة لمقاومة الخلية السرطانية للأدوية الكيميائية المستخدمة في علاج الأمراض السرطانية. تم إثبات تورط هذا البروتين في العديد من الأمراض السرطانية مثل اللوكيميا النقوية الحادة (Acute myelogenous leukemia; AML) وسرطان الثدي والمستقيم وسرطان الكبد وسرطان الرئة غير صغير الخلايا (Non-Small Cell Lung Cancer, NSCLC).^{٩٨٧}

يتألف قطاع BIR3 من خمسة حلزونات ألفا (٢ أو ٣ في النهاية الأمينية و ٣-٥ في النهاية الكربوكسيلية) بالإضافة إلى ٣ صفائح بيتا. يثبت هذا القطاع شاردة زنك عن طريق ربطها بعدة ثملات أمينية (Cys³⁰⁰, Cys³⁰³, Cys³²⁰ & His³²⁷). فيما يتعلق بآلية تداخله مع الركائز، يعد البيبتيد SMAC (Second mitochondria-derived activator of caspases)، وهو بروتين يتحرر في الخلية من الميتوكوندريا بالتزامن مع السيتركروم C، عبارة عن مشط طبيعي للبروتين XIAP. يرتبط SMAC مع XIAP عبر مجموعة من التداخلات والروابط الهيدروجينية وذلك بين ثملات AVPI من النهاية الأمينية للبيبتيد مع الجيب الفعال ضمن SMAC (الشكل 2A)، لذلك توجه العديد من الباحثين نحو تطوير مركبات مشابهة للمشط الطبيعي SMAC وذلك باستخدام بنية بيبتيدية أو غير بيبتيدية مشابهة لها بهدف الارتباط مع XIAP وتثبيط دور الأخير في تطور ونشوء الأورام.

(الشكل ٢: A) طريقة توضع المشط ضمن منطقة BIR3، B) طريقة ارتباط المشط AoxSPW ضمن نفس الجيب الرابط.



قام العالم Wist وزملاءه عام ٢٠٠٧ بتطوير بيبتيد رباعي AVPW مشابه لـ SMAC، تمتع هذا البيبتيد بإلفة عالية لقطاع BIR3، حيث سمح إدخال حلقة عطرية مثل ثمالة الفينيل آلانين أو الترتوفان بتعزيز الإلفة بينما يخفض تغيير الحمض الأميني الأول Ala بشكل كبير من إلفة الارتباط. تم تحسين الخواص الحركية للمركب بتحويله لمشابه بيبتيدي AoxSPW (1) لدى إدخال حلقة أوكسازول Oxazole. تتوضع النواة العطرية لثمالة الترتوفان بين ثمالتين ليزين Lys²⁹⁷ و Lys²⁹⁹ ضمن جيب الارتباط، من ناحية أخرى تتوضع نواة الأوكسازول وتؤمن تداخلات قطبية مع ثمالتين Asp³¹⁹ و Thr³⁰⁸ (الشكل 2B).

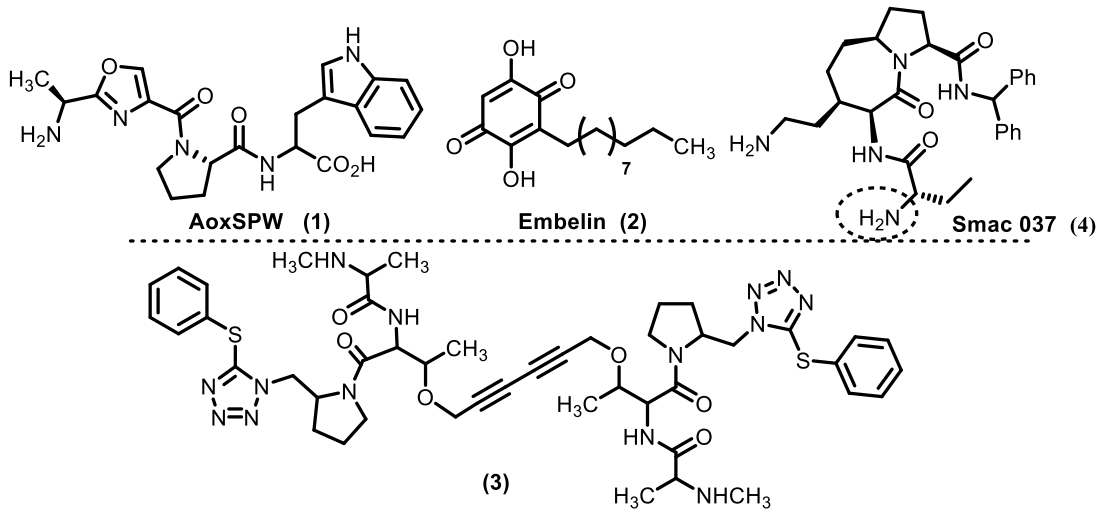
توجه الباحث Wang وفريقه من جامعة ميشغان إلى النباتات والأعشاب الصينية كمصادر للمواد الأولية، حيث سمحت دراسة الإرساء الافتراضية (Docking) لبنية المركبات المستخلصة من النباتات باكتشاف Embelin (2) كمشط غير بيبتيدي لـ XIAP. يعد الأمبولين مركب طبيعي مستخلص من العشب Japanese Ardisia، يعد اكتشافه مثلاً عن أهمية دراسة النمذجة الجزيئية في مجال اكتشاف الأدوية. يتألف المركب من نواة ثنائي هيدروكسي كينون متصلة بجذر الكيلي هيدروفوبي طويل نسبياً (١١ ذرة)، تتوضع

نواة الكينون موضع ثمالة الألائين ضمن جيب XIAP مشكلة روابط هيدروجينية بينما يمتد الجذر الألكيلي ضمن الجيب الهيدروفوبي للبروتين^١

قدم الباحث Xwang وفريقه نتيجة دراسة النمذجة الجزيئية على البروتين XIAP نموذجاً بنوياً مختلفاً وهو مركب متناظر يتألف من اتصال اثنين من مشتقات Tetrazoyl thioether مع روابط ثلاثية (٣). تمتع هذا المركب المضاعف بفعالية عالية تعادل ١٠٠٠ ضعف المركب الأحادي، تعد كل وحدة من وحدتي المركب الثنائي كمشابه للبيبتيد AVPI.^٦

في دراسة أخرى طور M. Bolognesi وزملاؤه مثبطات مشابهة لـ SMAC وهي عبارة من مشتقات آزوتية ثنائية الحلقة، امتازت هذه المركبات بقدرة على تشكيل مجموعة من الارتباطات مع الحموض الأمينية الهامة ضمن موقع BIR3 حيث ساهمت مجموعة الأمين الأولي (المشار لها) ضمن مركب Smac037 (٤) بتشكيل روابط مع ثمالات الموقع الفعال.

اعتمدت الدراسة خلال هذا البحث على بنية الأمبولين Embelin ومشتقاته مع الاستفادة من فهمنا للمتطلبات البنوية الضرورية للارتباط مع الموقع الفعال بهدف إجراء دراسة النمذجة الجزيئية لاكتشاف وتطوير مركبات جيدة فعالة ومثبطة للبروتين.



٢- أهمية البحث وأهدافه

يُعد البروتين XIAP من البروتينات الهامة المثبطة للموت الخلوي والمساهمة في نشوء العديد من الأمراض السرطانية وذلك لقدرتها على تثبيط الموت الخلوي بالإضافة لدورها في هجرة الخلايا ونشوء النقائل الورمية مع مقاومة للعوامل الكيميائية المعتمدة في علاج العديد من الأورام، أثبتت الدراسات تورط هذا البروتين في كل من اللوكيميا النقوية الحادة (AML) وسرطان الثدي والمستقيم وسرطان الكبد وسرطان الرئة غير صغير الخلايا (NSCLC) وهذا مايجعل منه هدفاً دوائياً واعداً في معالجة تلك الأورام وخاصة مع الازدياد المستمر للإصابة بالأمراض السرطانية لدى البشر.

يهدف هذا البحث إلى استخدام دراسة النمذجة الجزيئية (Molecular modelling) بغرض تصميم بنية مثبطات محتملة ذات إلفة وفعالية جيدة على البروتين XIAP لترشيح اصطناع تلك المركبات كيميائياً ليتم إجراء دراسات حيوية لاحقة عليها.

١- الطرائق

تم إجراء هذا البحث في كلية الصيدلة في جامعة طرطوس وذلك خلال الفترة الواقعة ما بين أيار عام ٢٠٢٣ ونيسان ٢٠٢٤. تتضمن الدراسة إجراء دراسة النمذجة الجزيئية وبشكل أكثر تحديداً دراسة الإرساء (docking)، حيث تم استخدام برنامج النمذجة الجزيئية Biovia Discovery Studio 2016 وبرنامج رسم الصيغ الكيميائية (ChemDraw Professional 15)، تشمل الطرائق في دراسة النمذجة الجزيئية عدة مراحل وذلك وفق التالي:

١,٣ إعداد مجموعة البيانات

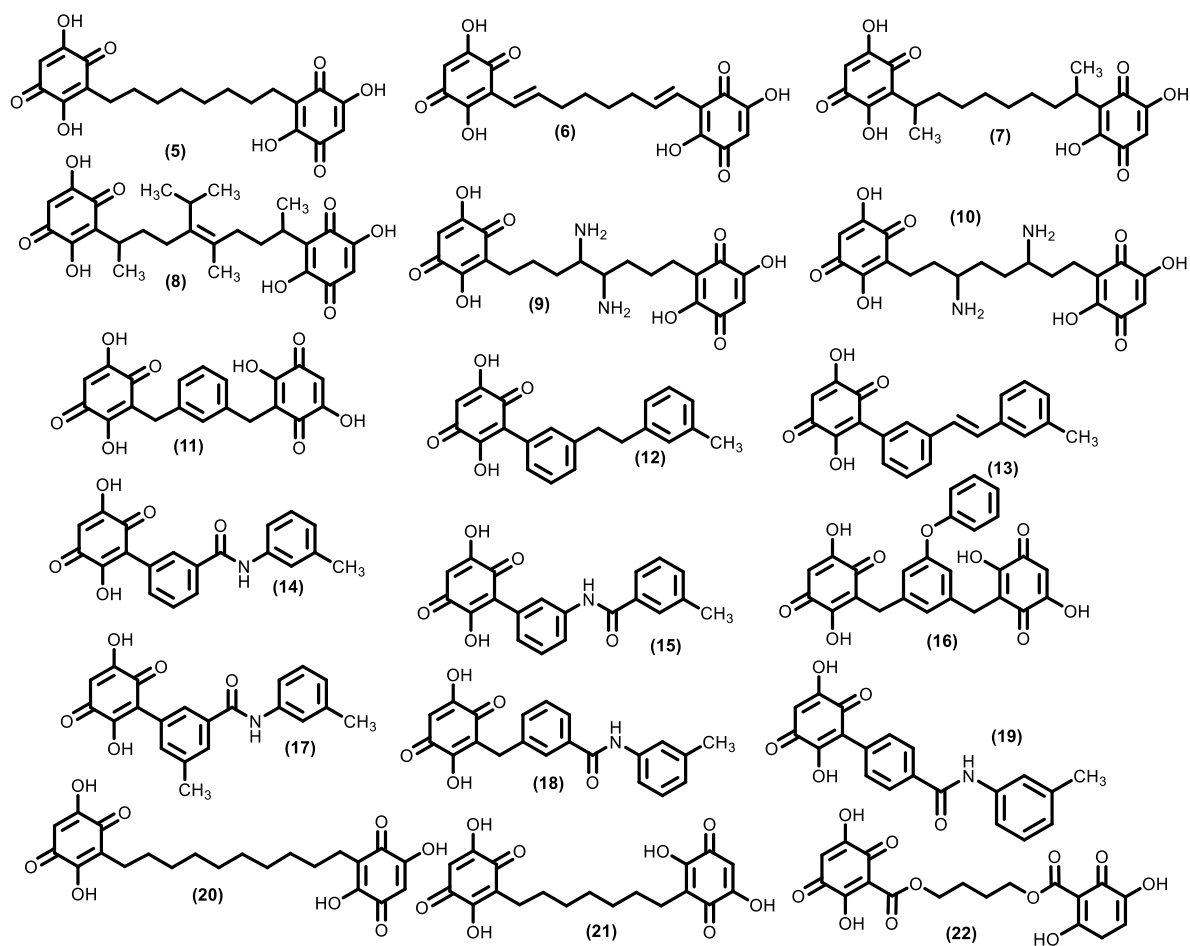
تم جمع الأشكال البلورية المتوفرة للبروتين XIAP من موقع بنك الأشكال البلورية للبروتينات (PDB Protein Data Bank)، اعتمد لإجراء الدراسة الشكل البلوري (PDB code 3EYL) والذي تمتع بدقة جيدة ($\text{Resolution} = 3.0 \text{ \AA}$) بالإضافة لتوافر جميع ثمالات الأحماض الأمينية الهامة فيه، يتضمن الشكل البلوري المدروس قطاع BIR3 من البروتين مع أحد مثبطاته المطورة مسبقاً (Smac037).

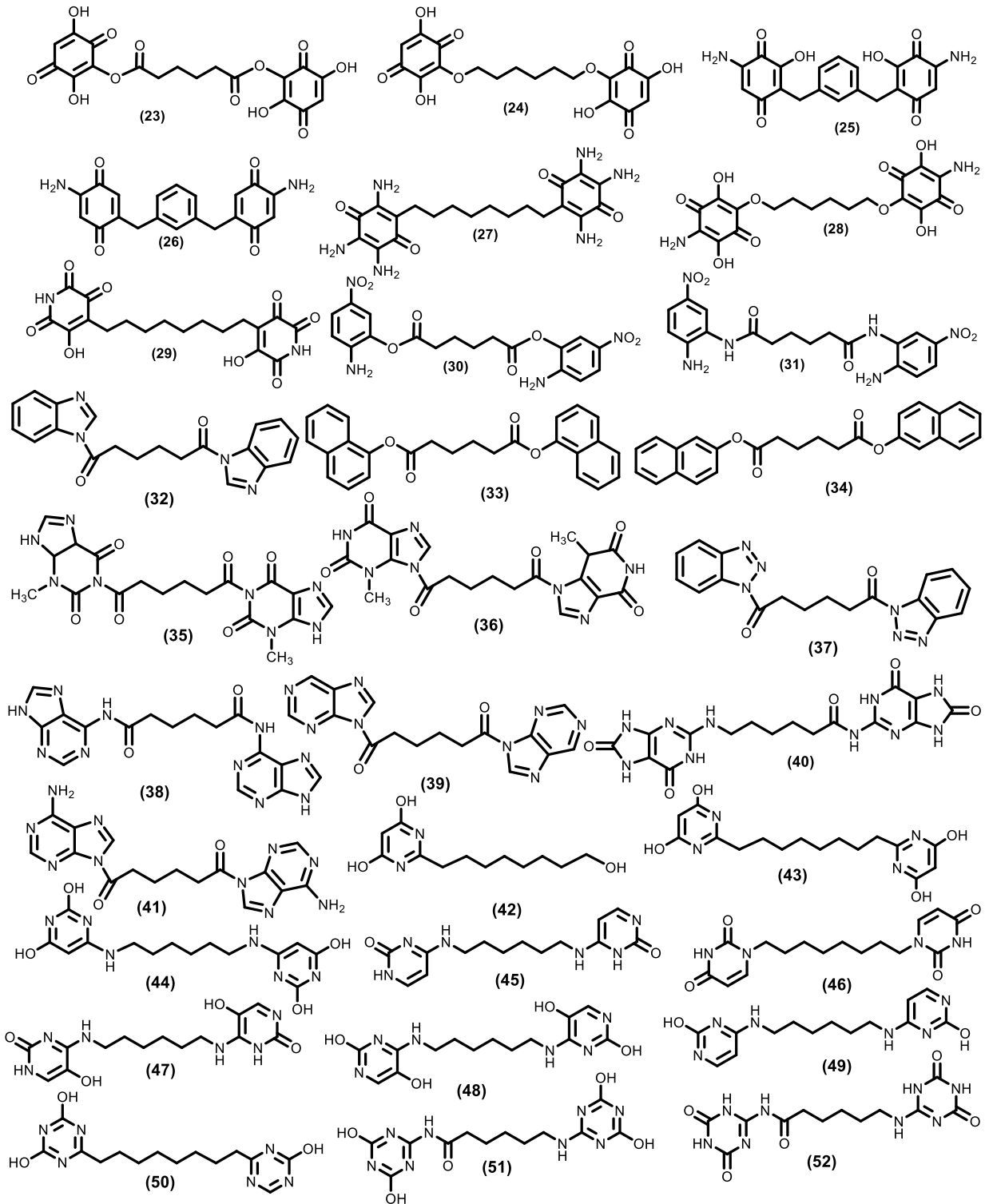
٢,٣ تحضير الشكل البلوري

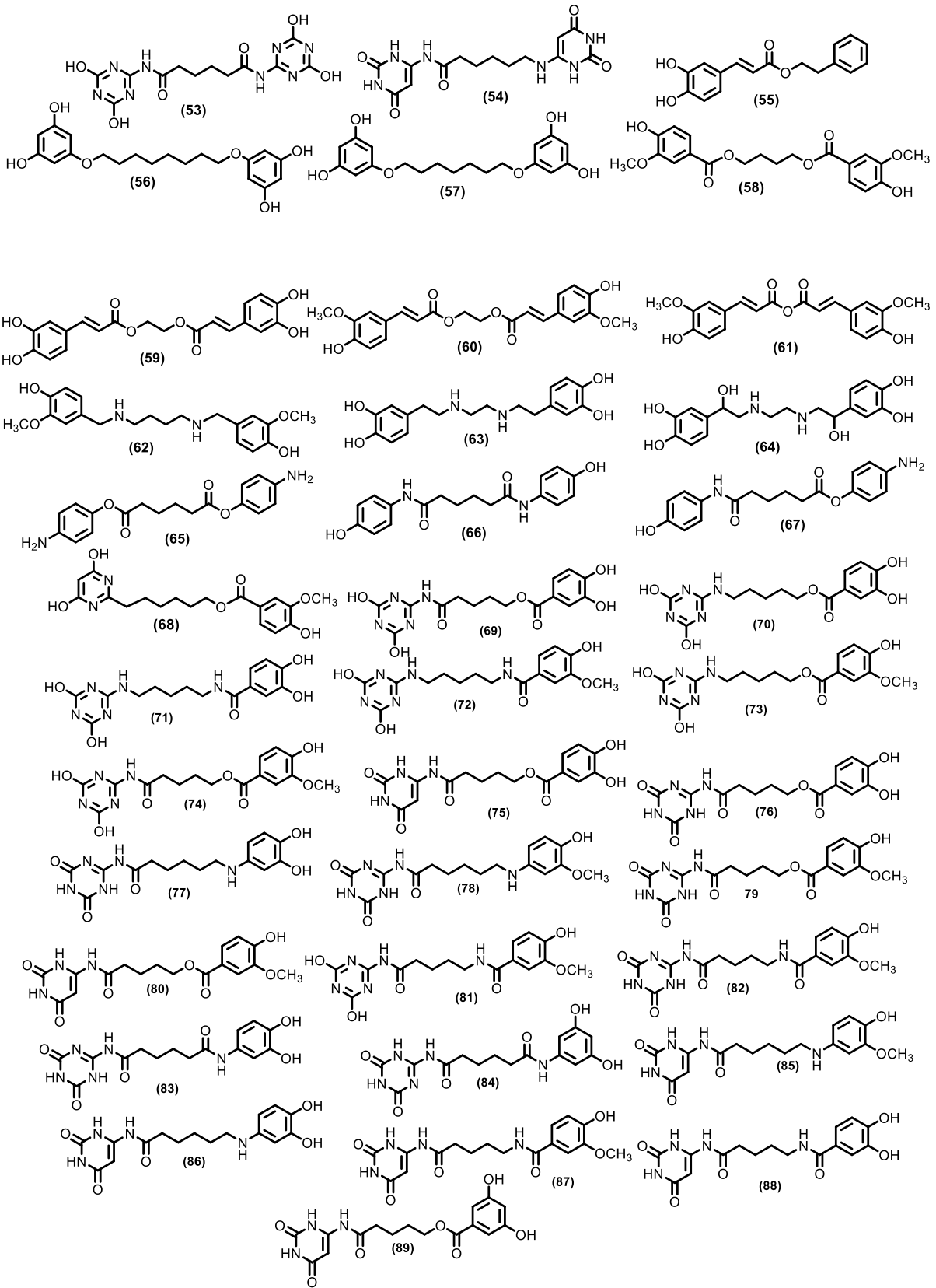
تمت معالجة الشكل البلوري المأخوذ من بنك الأشكال البلورية بهدف تحضيره لعملية الإرساء؛ أعتمد حقل قوة CHARMM حيث خضعت البلورة لعملية استرخاء لبنيتها (Minimization) وذلك بعد إضافة ذرات الهيدروجين وحذف جزيئات الماء الموجودة ضمن البلورة لضمان عدم تأثيرها على توضع المركبات التي ستم الدراسة عليها. تم إنشاء كرة بقطر ١٠ أنغستروم حول بنية المثبط المبلور بهدف تحديد موقع ارتباط المثبطات لتنتهي بعدها عملية التحضير بحذف جزيئة المثبط والحصول على البروتين مع موقع ارتباط جاهز لدراسة إرساء المركبات ضمنه.^٨

٣,٣ إعداد مكتبة جديدة من المركبات الكيميائية للدراسة

تم الانطلاق من بنية الأمبولين مع فهمنا لبنية الموقع الفعال لقطاع BIR3 للبروتين XIAP بهدف تصميم مكتبة من البنى الكيميائية مؤلفة من 85 بنية كيميائية، تتألف هذه المركبات بشكل عام من نظامين حلقيين (حلقات متجانسة أو غير متجانسة) بشكل يسمح بتشكيل شبكة من الروابط مع الموقع الفعال، تتصل تلك الحلقات ببعضها عبر ذراع وصل مختلف البنية (الشكل 3). تم رسم صيغ المركبات باستخدام برنامج الرسم Chem Draw، ليتم بعدها تحضيرها في برنامج النمذجة عن طريق البروتوكول المعتمد الخاص بتطبيق حقول قوى Apply Force Field (CHARMM) على كل هذه المركبات ومن ثم القيام بعملية استرخاء لهذه المركبات وتحضيرها للدراسة عن طريق القيام بعملية Prepare Ligand لتصبح بتوزع الكتروني وفراغي ذي طاقة أقل وثباتية أعلى







الشكل 3: صيغ المركبات التي تم تصميمها لإجراء دراسة الإرساء عليها.

١- عملية الإرساء

تمت عملية الإرساء للمركبات المقترحة المرسومة سابقاً عبر برنامج النمذجة الجزيئية وذلك بالاعتماد على بروتوكول CDocker Energy والذي يعد نموذجاً عن أدوات الإرساء الصلب. فهو يستخدم مخطط CHARMm-based molecular dynamics (DM) لإرساء الرابطة على موقع ربط المستقبل. حيث يتم تشكيل توضع عشوائية للربائط بشكل تترجم توضعاتها على موقع الربط من خلال عملية تدوير عشوائية للجسم الصلب متبوعة بـ Simulated Annealing وأخيراً يتم إجراء عملية تقليل الطاقة (Minimization) لصقل توضع الربائط.

تمت دراسة مصدوقية الطريقة بهدف التحقق من البروتوكول المعتمد بالدراسة وذلك قبل تطبيقها على المركبات قيد الدراسة، حيث تُرس إرساء المثبط الموجود مسبقاً ضمن البروتين (Smac037) ومقارنة النتائج مع توضع ضمن الشكل البلوري المرجعي بحيث لايتوجب امتلاكه انحراف أكبر من $2A^\circ$ ($2A^\circ < \text{RMSD}$ (Root Mean Square Deviation)). بعد هذه العملية تم إجراء عملية الإرساء للمركبات المصممة ضمن الجيب الفعال لأنزيم XIAP حيث تم إنشاء لكل مركب التهايؤات (Conformers) العشر الأولى والتي تحقق أفضل استقرار وأعلى إلفة ارتباط مع الجيب. تضمن تحليل نتائج الإرساء دراسة التقارب بين المستقبل والمركب المرشح بالاعتماد على الروابط الهيدروجينية والروابط الكهروإتية الساكنة والتداخلات الكارهة للماء بالإضافة إلى مقارنة قيمة إلفة الارتباط (Scoring Fonction) وهي قيمة CDocker energy بحيث تزداد الإلفة كلما زادت القيمة السلبية لها (-CDocker energy) والعكس صحيح.

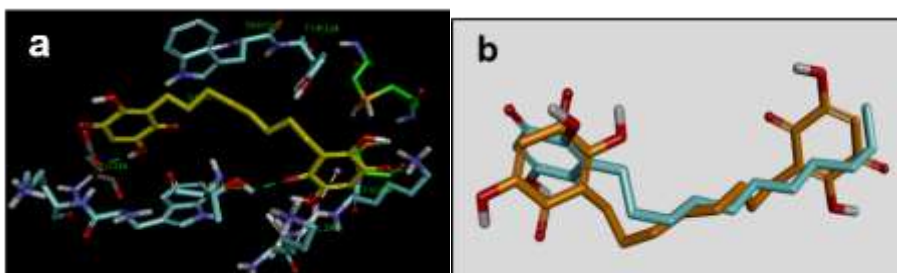
١- النتائج والمناقشة

شملت الدراسة تصميم مكتبة مؤلفة من 85 مركب كيميائي؛ حيث تمت دراسة عدة نقاط بنيوية ضمن هذه المركبات مثل أهمية وجود حلقتين في بنية المثبط بدل حلقة وحيدة، طول ذراع الوصل وطبيعة المتبادلات ضمنه بالإضافة لبنية الحلقات الموجودة في بنية المركب وذلك بهدف البحث عن البنى الكيميائية التي تحقق أعلى إلفة وأفضل ارتباط مع الموقع الفعال. سمحت الدراسة بتحديد طرق توضع هذه المركبات ضمن موقع الارتباط مع تحديد لمقدار إلفة الارتباط، تم التعبير عن مستوى الإلفة (Scoring Fontion) بالقيمة السلبية لـ CDocker Energy كما هي معروضة في الجدول (١).

Number	-Cdocker Energy	Number	-Cdocker Energy	Number	-Cdocker Energy	Number	-Cdocker Energy
(Embelin) ٢	26	25	19	47	50	69	52
		26	18	48	56	70	58
5	31	27	27	49	48	71	64
6	17	28	28	50	67	72	58
7	27	29	37	51	62	73	55
8	10	30	34	52	46	74	59
9	29	31	37	53	71	75	54
10	37	32	-4	54	62	76	55
11	24	33	33	55	29	77	51
12	30	34	34	56	35	78	49
13	19	35	11	57	34	79	50
14	25	36	-3	58	38	80	48
15	24	37	3	59	26	81	57
16	21	38	33	60	25	82	49
17	26	39	11	61	31	83	57
18	29	40	30	62	48	84	53
19	28	41	-3	63	50	85	52
20	32	42	37	64	58	86	55
21	32	43	55	65	36	87	51
22	42	44	59	66	40	88	51
23	47	45	48	67	37	89	49
24	35	46	50	68	47		

الجدول ١: يوضح نتائج دراسة الإرساء وقيم إنفة ارتباط المركبات المدروسة (-CDocker energy).

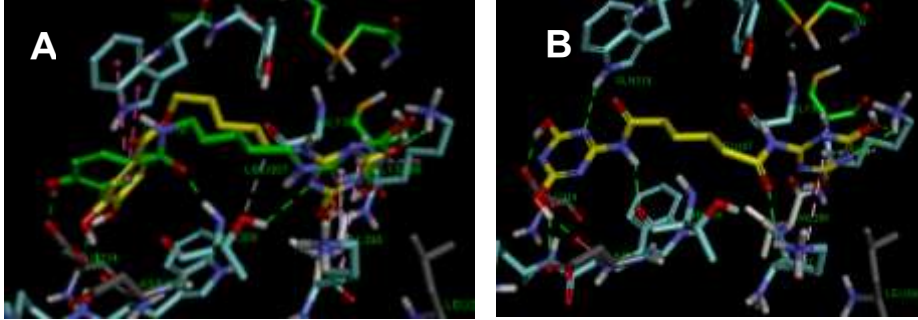
يحتوي المثبط الطبيعي الأمبولين (2) على نواة ثنائي هيدروكسي كينون متصلة بجذر الكيلي مؤلف من ١١ ذرة كربون، تتوضع نواة الكينون لتأمين روابط هيدروجينية مابين مجموعات الكربونيل وأوكسجين الكحول وثمالات الموقع الفعال في حين يشكل الذراع الالكيلي تداخلات فاندرفالس مع الثمالات الكارهة للماء ضمن الجيب. يفتقر المركب في نهاية الذراع الالكيلي لمجموعات قطبية يمكن لها أن تساهم بشكل افتراضي بالارتباط مع ثمالات الجيب، من ناحية أخرى أثبتت الدراسات المجراة لدى تطوير مركب Smac037 (4) أهمية مجموعة الأمين القلوية لقدرتها على تشكيل تداخلات الكتروستاتية مع ثمالات الجيب الفعال لـ XIAP. بناء على السابق، تم اختبار وجود حلقة إضافية في الطرف الثاني للذراع مثل المركب (5)، سمح إدخال حلقة ثنائي هيدروكسي كينون إضافية في نهاية الذراع الالكيلي بتأمين ارتباطات إضافية (Thr³⁰⁸, Val²⁹⁸) وذلك بالمقارنة مع الامبولين (2) كما في الشكل (٤).



الشكل 4: (a) توضع المركب (5) وارتباطه مع ثمالات الجيب الفعال، (b) صورة توضح تراكب (5) وتطابقة بنيته مع الأمبولين.

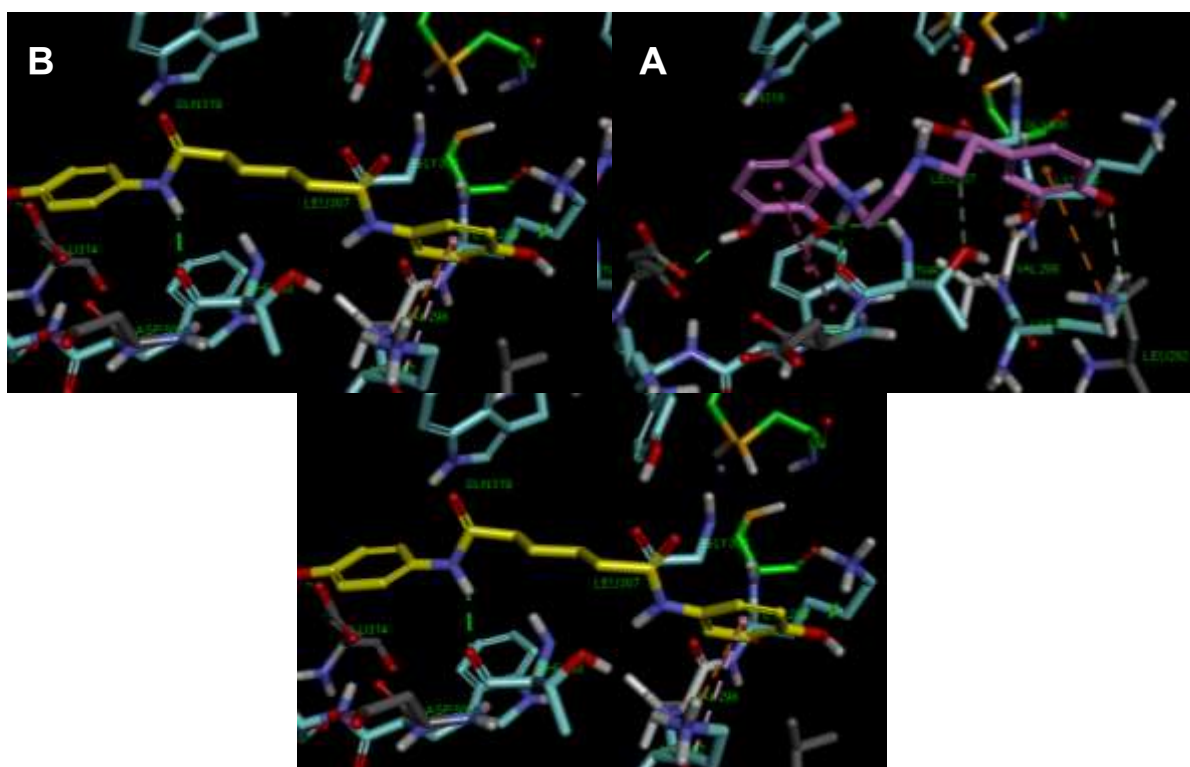
تمت دراسة أهمية تثبيت بنية ذراع الوصل وتحديد الشكل الفراغي وذلك عن طريق إدخال روابط ثنائية (6) أو متبادلات ألكيلية (7, 8) أو حتى إدخال بنى عطرية تعطي المركبات بنية صلبة نسبياً كما في المركبات (11-19). بشكل عام لم تظهر هذه المركبات إلفة ارتباط أفضل بالمقارنة مع المركب (5). تم التحقق من أهمية طول ذراع الوصل في هذه المركبات، توافقت زيادة طول ذراع الوصل الألكيلية من 8 إلى 10 (20) مع زيادة في انحناء المركب لتأمين تداخل الحلقات الطرفية مع ثمالات الجيب ولكن مع ابتعاد نسبي للذراع الألكيلي عن بقية ثمالات الجيب دون تغيير ملحوظ في إلفة الارتباط، من ناحية أخرى لم يترافق تقصير طول الذراع إلى 7 ذرات (21) مع زيادة في الإلفة ومنه تم اعتماد ذراع وصل مؤلف من 8 ذرات ضمن بقية المركبات المدروسة.

تم اختبار إدخال مجموعات وظيفية ضمن بنية الذراع مثل مجموعة إستر ومجموعة إيتير (22-24)، تساهم هذه المجموعات بشكل عام وخاصة في حال وجودها في موقع مجاور للحلقة بالحصول على مركبات ذات إلفة أفضل وذلك بقدرتها على تداخلات إضافية مع الهدف. من ناحية أخرى، حقق إدخال مجموعات قطبية أخرى مثل مجموعة أمين أو أميد ضمن الذراع مزايا أفضل وخاصة لدى وجود بنى حلقة أخرى مختلفة عن ثنائي هيدروكسي كينون مثل المركبين (70) و(71). حيث تساهم مجموعة الأميد بتشكيل رابطة هيدروجينية (HBD) مع ثمالة Thr³⁰⁸ (الشكل 5A).



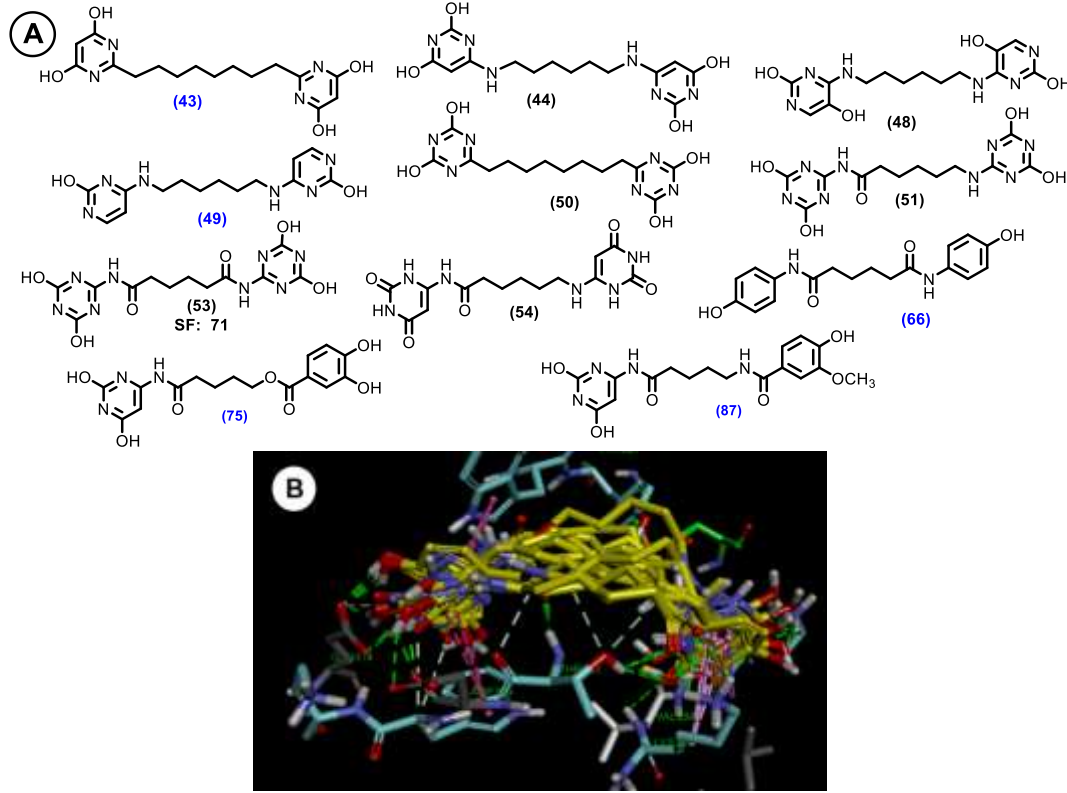
الشكل 5: (A) صورة توضح ارتباط المركب (70) باللون الأصفر والمركب (71) باللون الأخضر، (B) صورة توضح ارتباط المركب (53). فيما يتعلق بطبيعة الحلقات؛ لم تشكل نواة ثنائي هيدروكسي كينون الخيار الأفضل للمثبطات المقترحة، كما لم تسمح إضافة متبادلات إضافية مثل الأمين على الحلقة نفسها (25-28) أو آزوت ضمن بنية نفس الحلقة (29) بزيادة ملحوظة في مستوى الإلفة. بالإضافة للسابق ترافق استخدام حلقتين عطريتين بدل حلقة واحدة في كل طرف (نواة النفثالين، والبنزوايميدازول، والبنزوتريازول، والكزاننتين أو حتى البورين والأدينين) مع انخفاض ملحوظ في مستوى الإلفة (32-41). ولكن شكلت حلقتي التيريازين (Triazine di-ones) واليوراسيل الخيار الأفضل وذلك لتحقيق ارتباطات جيدة هيدروجينية وفاندرفالس مع ثمالات الجيب الفعال (43) و(50) و(53). أظهر المركب (53) أعلى إلفة ارتباط (SF = 71) بالمقارنة مع المركبات السابقة، شكلت حلقات التيريازين من الطرفين روابط هيدروجينية مع ثمالات الجيب Val²⁹⁸, Lys²⁹⁹, Asp³⁰⁹, Glu³¹⁴, Gln³¹⁹ كما

شكلت نواة إحدى الحلقات تداخلات من نمط باي كاتيون مع Lys^{297} ، بالإضافة للسابق ساهم ذراع الوصل الأميدي بتشكيل روابط هيدروجينية مع ثمالات Thr^{308} و Lys^{297} . شمل البحث على إجراء دراسة الإرساء على عدة مركبات متناظرة حاوية على حلقة الفينيل المتجانسة مثل مشتقات الريزرسينول وحمض الفانيليك (Vanillic Acid) وحمض ثنائي هيدروكسي بنزويك (Dihydroxy Benzoic Acid) بالإضافة لحمض السيناميك (Cinnamic acid)، أظهرت تلك المركبات إلفة متوسطة إلى جيدة بشكل عام وذلك حسب طبيعة المتبادلات الموجودة وذراع الوصل بين الحلقتين. من ناحية أخرى شكلت مشتقات الكاتيكول أمين (62-64) أو بارا أمينو فينول (6٦) ارتباطات جيدة نسبياً، يمكن الملاحظة لدى مقارنة إلفة وطريقة ارتباط المركبات المختبرة أهمية وجود مجموعة أمين ضمن الذراع وذلك بجوار النظام الحلقي أو في الموقع أورثو من الحلقة المستخدمة وذلك بهدف تشكيل روابط HBD تثبتت تواضع الحلقة (الشكل 6).



الشكل ٦: (A) يوضح ارتباط مشتق الكاتيكول أمين (٦٤)، (B) يوضح ارتباط مشتق بارا أمينوفينول (٦٦) مع ثمالات الجيب الفعال. تتضمن البحث أيضاً على إجراء إرساء لمركبات تضمن نوعين مختلفين من الحلقات مثل المركبات (68-89)، تمتعت أغلب هذه المركبات بقيمة إلفة ارتباط جيدة. من ناحية أخرى امتازت بعض الحلقات غير المتجانسة بإمكانية وجودها بعدة أشكال طينية (شكل كيتوني أو إينول) ومنه تم إجراء إرساء إضافية لبعض الأشكال الطينية المحتملة لهذه المركبات. تقاربت إلفة الارتباط للأشكال الطينية الممكنة للمركبات المدروسة مع إمكانية وجود تفاوت نسبي وهذا مايعزى إلى تغير بعض المجموعات الوظيفية من مانح للروابط الهيدروجينية (HBD) إلى مستقبل لها (HBA) أو بالعكس، ولكن بشكل عام يعزز وجود إلفة متقاربة لهذه

التهايؤات (Conformers) من احتمال ارتباط المركب ضمن الجيب الفعال بعض النظر عن التهايؤ المتواجد فيه. من المشاكل المرافقة لبعض المركبات هو عدم ثبات توضعها ضمن الجيب، فهي تبدي انقلاب في التوضع وتبادل في مواقع الحلقات وهذا مايمكن تفسيره لقدرة جميع الحلقات غير المتجانسة على تشكيل روابط هيدروجينية مع شمالات الجيب الفعال. بناءً على النتائج السابقة ونتيجة لتحليل نتائج الإرساء، تم انتقاء 11 مركب (Hits)، تمتعت تلك المركبات بإلفة عالية للبروتين XIAP مع ثباتية جيدة للتهايؤات الفراغية المختلفة لها ضمن موقع الارتباط BIR3 (الشكل 7).



الشكل 7: (A) صيغ المركبات التي حققت إلفة ارتباط واستقرار جيد ضمن الجيب (B) صورة توضح ارتباط تلك المركبات معاً ضمن الموقع BIR3 من البروتين XIAP.

لم تقتصر القائمة على المركبات المتناظرة بل شملت أيضاً مركبات مثل (75) و(87) التي تتألف من نواة البيريبيدين من جهة ونواة الكاتيكول. خضعت المركبات الإحدى عشرة المنتقاة (Hits) لدراسة إضافية لاحقة لتحديد مدى تطابقها مع قواعد ليبينسكي وفبير (Lipinski & Veber Rules)، تهدف هذه الدراسة إلى التنبؤ بقدرة إعطاء هذه المركبات بالطرق الفموي مع تمتعها بتوافر حيوي مقبول. تضمنت بنود تلك القواعد عدة معايير بنيوية كعدد المجموعات مصدر للروابط الهيدروجينية وغيرها من المعايير كما في الجدول (2) مع إمكانية قبول تجاوز وحيد في إحدى تلك البنود.

الجدول (2): المعايير البنيوية التي تتضمنها قواعد ليبينسكي وفبير.

Lipinski Rule of Five	Veber Rule
Hydrogen Bond Donors HBD ≤ 5	Rotatable Bonds (RB) ≤ 10
Hydrogen Bond Acceptors HBA ≤ 10	Polar Surface Area (PSA) ≤ 140

Molecular Weight (W) < 500	Hydrogen Bond Donors and Acceptors HBD & HBA ≤ 12
AlogP < 5	

حققت خمس مركبات من المجموعة السابقة التزامها بتلك القواعد (43, 49, 66, 75 & 87) مع وجود تجاوز نسبي لبقية المركبات وذلك بشكل أساسي في مصدر الروابط الهيدروجينية والمساحة القطبية للمركب (الجدول ٣).

الجدول (٣): نتائج دراسة قواعد ليبنسكي وفيرر على المركبات المختارة.

Name	-Cdocker energy	HBA	HBD	W	AlogP	RB	PSA
43	55	8	4	334.37	3.989	9	132.48
44	59	10	6	336.34 6	3.323	9	156.54
48	56	10	6	336.34 6	2.245	9	156.54
49	48	8	4	304.34 8	2.729	9	116.08
50	67	10	4	336.34 6	3.705	9	158.26
51	62	13	6	352.30 6	2.146	8	199.39
53	71	14	6	366.29	1.252	7	216.45
54	62	11	6	350.33	-0.842	8	157.52
66	40	6	4	328.36 2	2.378	7	98.66
75	54	10	5	363.32 2	0.703	8	154.05
87	51	10	5	376.36 4	0.281	8	145.85

تعتبر المركبات الخمسة كمركبات مختارة (Top Hits) وهي تعد مشبطات عالية الإلفة على البروتين XIAP مع فعالية افتراضية عليه لذلك تم ترشيحها لإجراء الاصطناع الكيميائي والدراسات الحيوية اللاحقة عليها. يمكن اصطناع بعض هذه المركبات عن طريق إجراء تفاعلات لتشكيل إستر و/أميد مثل اصطناع المركب 66 والذي يتم عن طريق تفاعل تشكيل أميد مابين حمض الأديك وجزيئتين من حلقة البارأمينوفينول.

١- الاستنتاجات والتوصيات

تم إجراء دراسة الإرساء على القطاع BIR3 من البروتين XIAP وذلك بتصميم مكتبة جديدة مؤلفة من 85 بنية كيميائية مختلفة، سمحت هذه الدراسة باكتشاف العديد من المركبات التي أبدت إلفة جيدة تجاه موقع الارتباط. امتازت تلك المركبات بوجود بنية حلقة من الطرفين، ساهمت تلك الحلقات (غير متجانسة ومتجانسة) مع متبادلاتها المختلفة في تأمين عدة ارتباطات مع الثمالات الهامة في موقع الربط مثل²⁹⁷ Lys, Val²⁹⁸, Lys²⁹⁹, Thr³⁰⁸, Asp³⁰⁹, Trp³¹⁰, Gln³¹⁹, Trp³²³, Tyr³²⁴, ساهمت المجموعات القطبية المتبادلة ضمن الحلقات والموجودة في الموقع اورتو المجاور لذراع الوصل بتثبيت الارتباط مع الجيب الفعال وكذلك الأمر

كان دور المجموعات الوظيفية للذراع الموجود بجوار الحلقات في حين شكل الجذر الألكيلي للذراع تداخلات فاندرالس مع ثمالات جيب XIAP.

خمس مركبات تلك القواعد بينما خالفت البقية تلك القواعد في بعض البنود وبشكل خاص عدد المجموعات مصدر للراوبط الهيدروجينية وذلك بسبب وجود العديد من المجموعات الوظيفية القطبية والحلقات غير

دراسة إرساء إضافية لمكتبة جديدة من المركبات مشتقة من المركبات السابقة المدروسة بهدف دراسة العلاقة ما بين البنية والإلفة للبروتين الهدف.

٢-المراجع References

- ¹ SILKE J. VUCIC D. **2014**, *Chapter Two-IAP Family of Cell Death and Signaling Regulators. Methods in Enzymology USA*, 545, 35-65pp. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801430-1.00002-0>.
- ² OBEROI-KHANUJA T.K. MURALI A. RAJALINGAM K. **2013**, *IAPs on the move: role of inhibitors of apoptosis proteins in cell migration. Cell Death and Disease Germany*, 4 (9), e784, 1-9pp. <https://doi.org/10.1038/cddis.2013.311>.
- ³ HUANG X. WU Z. MEI Y. WU M. **2013**, *XIAP inhibits autophagy via XIAP-Mdm2-p53 signalling. EMBO J China*, 32: 2204–2216pp. <https://doi.org/10.1038/emboj.2013.133>.
- ⁴ ECKELMAN B.P. SALVESEN G.S. SCOTT F.L. **2006**, *Human inhibitor of apoptosis proteins: why XIAP is the black sheep of the family. EMBO Reports USA*, 7(10): 988–994pp. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400795>.
- ⁵ LIU J. ZHANG D. LOU W. YU Y. ZHANG X. CHEN J. WU X. R, HUANG C. **2012**, *E3 ligase activity of XIAP RING domain is required for XIAP-mediated cancer cell migration, but not for its RhoGDI binding activity. PLoS One USA*, 7, 4, 1-11pp. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035682>.
- ⁶ CHAUDHARY A.K. YADAV N. BHAT T. A. MALLEY J.O. KUMAR S. CHANDRA. D. **2016**, *A potential role of X-linked inhibitor of apoptosis protein in mitochondrial membrane permeabilization and its implication in cancer therapy. Drug Discovery Today USA*, 21, 1, 38–47pp. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2015.07.014>.
- ⁷ SHIMMER A. D. DALILI S. BATEY R.A. RIED S.J. **2006**, *Targeting XIAP for the treatment of malignancy. Cell Death and Differentiation Canada*, 13, 179–188pp. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401826>.
- ⁸ EVANS M. SAUER S. NATH S. RONINSON T. MORS M. DEVI G. **2016**, *X-linked inhibitor of apoptosis protein mediates tumor cell resistance to antibody-dependent cellular cytotoxicity. Cell Death and Disease USA*, 7, 2073, 1-11pp; <https://doi.org/10.1038/cddis.2015.412>.
- ⁹ GU L. ZHANG H. ZHOU M. **2016**, *Discovery of dual inhibitors of MDM2 and XIAP for cancer treatment. Cancer Cell USA*, 30, 1-14pp. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2016.08.015>.
- ¹⁰ LIU Z. SUN C. OLEJNICZAK E.T. MEADOWS R.P. BETZ S.F. OOST T. HERRMANN J. WU J.C. FESIK S.W. **2000**, *Structural basis for binding of Smac/*

DIABLO to the XIAP BIR3 domain. Nature USA, 408, 1004-1008pp.

<https://doi.org/10.1038/35050006>.

¹SHIOZAKI E.N. CHAI J. RIOGOTTI D.J. RIEDL S.J. LI P. SRINIVASULA S.M. ALNEMRI E.S. FAIRMAN R. SHI Y. **2003**, *Mechanism of XIAP- mediated inhibition of caspase -9. Molecular Cell USA, 11, 519-527pp.* [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(03\)00054-6](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(03)00054-6).

¹SUN H. NIKOLOVSKA-COLESKA Z. CHEN J. YANG C.Y. TOMITA Y. PAN H. YOSHIOKA Y. KRAJEWSKI K. ROLLER P.P. WANG S. **2005**, *Structure-based design, synthesis and biochemical testing of novel and potent Smac peptido-mimetics. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters USA, 15, 793–797pp.* <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2004.11.008>.

¹WIST A.D. GU L. RIEDL S.J. SHI Y. MCLENDON J.L. **2007**, *Structure–activity based study of the Smac-binding pocket within the BIR3 domain of XIAP. Bioorganic & Medicinal Chemistry. USA, 15, 8, 2935–2943pp.* <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.02.010>.

¹NIKOLOVSKA-COLESKA Z. XU L. HU Z. TOMITA Y. LI P. ROLLER P.P. WANG R. FANG X. GUO R. ZHAMG M. LIPPOMAN M.E. YANG D. SHAOMENG W. **2004**, *Discovery of Embelin as a Cell-Permeable, Small-Molecular Weight Inhibitor of XIAP Through Structure-Based Computational Screening of a Traditional Herbal Medicine Three-Dimensional Structure Database, Journal of Medicinal Chemistry USA, 47, 10, 2430–2440,* <https://doi.org/10.1021/jm030420>.

¹CHEN J. NIKOLOVSKA-COLESKA Z. WANG G. QIU S. WANG S. **2006**, *Design, synthesis, and characterization of new embelin derivatives as potent inhibitors of X-linked inhibitor of apoptosis protein. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters USA, 16, 22, 5805–5808pp.* <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.08.072>.

¹Li L. THOMAS R. M. SUZUKI H. Brabander J. K. WANG X. HARRAN P.G. **2004**, *A small molecule Smac mimic potentiates TRAIL- and TNFalpha-mediated cell death. Science USA, 305, 5689, 1471–1474pp.* <https://doi.org/10.1126/science.1098231>.

¹COSSU F. MARTRANGELO E. MILANI M. SORRENTINO G. LECIS D. DELIA D. MANZONI L. SENECI P. SCOLASTICO C. BOLOGNESI M. **2009**, *Designing Smac-mimetics as antagonists of XIAP, cIAP1, and cIAP2. Biochemical and Biophysical Research Communications Italy, 378, 162–167pp.* <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.10.139>.

¹BROOKS B.R. BRUCCOLERI R.E. OLAFSON B.D. STATES D.J. SWAMINATHAN S.A. KARPLUS M. **1983**, *CHARMM: A Program for Macromolecular Energy, Minimization, and Dynamics Calculations. Journal of Computational Chemistry USA, 4, 187-217.* <https://doi.org/10.1002/jcc.540040211>.

¹KALATHIYA U. PADARIYYA M. BAGINSKI M. **2014**, *Molecular Modeling and Evaluation of Novel Dibenzopyrrole Derivatives as Telomerase Inhibitors and Potential Drug for Cancer Therapy. IEEE / ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics Poland, 11, 1196-1207pp.* <https://doi.org/10.1109/TCBB.2014.2326860>.

²WANG Q. HE J. WU D. WANG J. YAN J. LI H. **2015**, *Interaction of A-Cyperone with Human Serum Albumin: Determination of the Binding Site by Using Discovery Studio and Via Spectroscopic Methods. Journal of Luminescence China, 164, 81-85pp.* <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2015.03.025>.

²LIPINSKI C.A. LOMBARDO F. DOMINY P.W. FEENEY P.J. **1997**,
Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings, *Advanced Drug Delivery Reviews* USA, 23, 3-25pp. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00129-0).

² VEBER D.F. JOHNSON S.R. CHENG H.H. SMITH B.R. WARD K.W. KOPPLE K.D. **2002**, *Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates*, *Journal of Medicinal Chemistry* USA, 45, 2615-2623pp. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jm020017n>.