

تصميم الأدوية ضد الفيروسات باستهداف مراحل مضاعفة الحمض النووي و تحرير الارتباط . مقارنة بين فيروسات كورونا كوفيد 19 و الإيدز والأنفلونزا

مقدمة



م. بعزیز
جامعة القاضي عياض،
مراكش، المغرب
baaziz@uca.ac.ma

أنتج وباء الفيروسات التاجية لعام 2019 (COVID-19) الخوف والاضطراب إثر الانتقال السريع للعدوى و صعوبة السيطرة عليه في الشهور الأولى من ظهوره. مباشرة بدأ التفكير في إيجاد لقاح ودواء لإيقاف الجائحة. و مهما أن هذا يتطلب قبل كل شيء المعرفة الشاملة للفيروس والميكانيزمات البيوكيميائية للعدوى، وقع ارتباك كبير في كل المجتمعات أخذت بعين الاعتبار الانتشار السريع للفيروس و متطلبات البحث العلمي من تجارب متعددة و طويلة الأمد. في هذا المناخ بدأت بشكل سريع تجربة أدوية سابقة أبانت فاعليتها في علاج أمراض أخرى بعيدة أو قريبة من وباء كورونا. هكذا بدأ الحديث عن استعمال دواء هيدروكسي كلوروكين (Hydroxychloroquin) الذي يعالج أصلا الملاريا و دواء ريمديسيفير (Remdesivir) الذي يستعمل ضد مرض إيبولا.

لما لا نجرب و تاريخ الأدوية علمنا أن العديد من الأدوية كانت مصممة لعلاج مرض معين فأصبحت تستعمل في مكافحة أمراض مختلفة و كمثل حاضر، دواء أزيدوثيميدين (AZT) الذي يستعمل حاليا لمكافحة فيروس نقص المناعة المكتسبة (AIDS) كان صمما أصلا لعلاج السرطان.

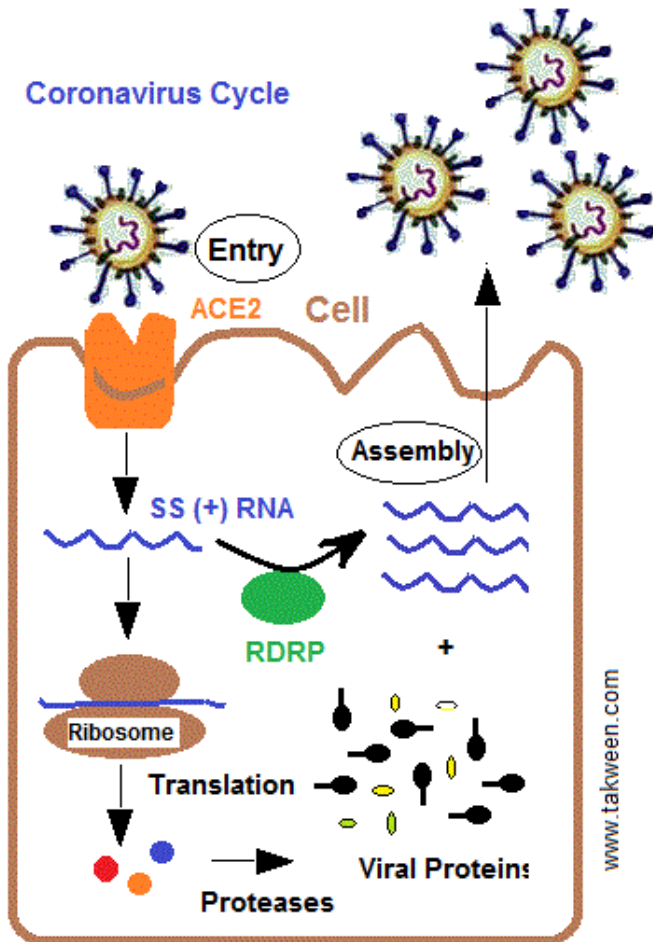
في انتظار وجود لقاح أو دواء ناجع ضد فيروس كورونا كوفيد 19، يجب نهج الوقاية أولا. على هذا النحو، يجب أن يلهما انتشار هذا الفيروس التاجي التفكير في تجربة محاربة فيروس نقص المناعة المكتسبة على مدى السنوات الأربعين الماضية. كما هو الحال مع فيروس AIDS، فإن الطريق إلى الحد من العدوى بفيروس كورونا كوفيد 19، يتطلب استراتيجيات طبية وغير طبية. ففي بداية وباء الإيدز حدثت تغييرات في السلوك الجنسي و تدخلت الحكومات في إغلاق 'النقاط الساخنة' لانتقال فيروس نقص المناعة المكتسبة مثل الحمامات ومجالات أخرى. بالنسبة لـ كورونا، أظهر الحجر الصحي في المنازل واستعمال الأقنعة والقفازات ونظافة الأيدي، انعكاسات إيجابية في حد العدوى، في انتظار لقاح أو دواء ناجع.

إن تقليص العدوى جراء كل هذه السلوكيات قد يتأتى باستعمال العقاقير المضادة للفيروسات والتي تقلل من شدة العدوى و تمنع الانتقال المستمر (تنشيط تكاثر الفيروس). مكن العلاج الأول لفيروس نقص المناعة المكتسبة، أزيدوثيميدين (AZT)، من تمديد عمري يصل إلى 18 شهرا، مما وفر الأمل في أن تتحول عدوى فيروس نقص المناعة المكتسبة من 'حكم بالإعدام' إلى مرض قابل للعلاج. هكذا كان الحد من خطر انتقال العدوى من الأم إلى الطفل باستعمال AZT كأول وقاية طبية حيوية ضد انتقال فيروس نقص المناعة المكتسبة. كان هذا النجاح مقدمة لـ 'العلاج الوقائي'، حيث تقلل العقاقير المضادة للفيروسات الحمل الفيروسي لفيروس الإيدز إلى نقطة لا يعود فيها الأشخاص المصابون ينقلونه. بالنسبة لـ SARS-CoV-2، أظهرت النتائج الأولية من تجربة عشوائية كبيرة مضبوطة أن العقار المضاد للفيروسات، ريمديسيفير (Remdesivir) يقلل بشكل كبير من مدة الاستشفاء لـ COVID-19. تفضي هذه التجربة إلى إمكانية أن تصبح العقاقير المضادة للفيروسات والأجسام المضادة وحيدة النسيلة (Monoclonal antibodies) التي تحيد SARS-CoV-2، أدوات دوائية غير سامة للوقاية.

مراحل العدوى عند الفيروسات

قبل التطرق لصنع العقاقير، يجب تدقيق مرحلة عدوى الفيروس للخلية حتى يتم التدخل بنجاعة. هناك ستة مراحل للعدوى تبدأ بالارتباط (Attachment) يليه الاختراق أو الدخول (Entry, Penetration, Uncoating) و نزع الكابسيد (Decapsidation) و مضاعفة الحمض النووي (Replication) والتغليف (Packaging, Assembly) و التحرر (Release).

كل عقار يصمم إلا و يستهدف مرحلة معينة من بين المراحل الستة. لكن قبل البدء في التصميم والتصنيع يجب معرفة الميكانيزمات التي تتميز بها كل مرحلة. يعرف الباحثون في المختبرات المبادئ البيوكيميائية في العدوى لكل مرحلة. فمرحلة الارتباط تتطلب و جود مستقبلات (Receptors) خاصة بالفيروس محمولة بالخلاية المضيفة و التي تنتمي إلى أنواع معينة من الخلايا أو الأنسجة وبالتالي فإن المستقبل يعتبر محددًا حاسمًا في مدار الفيروس. لهذا نجد أن بعض الفيروسات لا يمكنها أن تصيب الإنسان وتصيب الطيور مثلا، لوجود مستقبلات خاصة عند هذه الأخيرة. على سبيل المثال، يستخدم فيروس الإيدز جزيء CD4 لبعض الخلايا الليمفاوية التائية والبلعيمات، كمستقبل ترتبط به جليكوبروتينات من نوع gp120 الذي يوجد بسطح غلاف الفيروس. طبيعياً، جزيء CD4 ضروري لعمل الخلايا الليمفاوية CD4 + T ، إذ يسمح لها بالتفاعل مع جزيئات مركب التماثل النسيجي.



فيما يخص فيروسات الزكام (أنفلونزا)، فهي تعدي أغشية القصبة الهوائية لأنها حاملة للحمض السيلالي (Sialic acid) كمستقبل يرتبط به الفيروس. بعد التكاثر يبقى الفيروس معلقًا بالخلاية المضيفة حتى يستعمل أنزيم نورامينيداز (Neuraminidase) الذي يتوفر عليه ليفك ارتباطه و ينتقل إلى خلية جديدة.

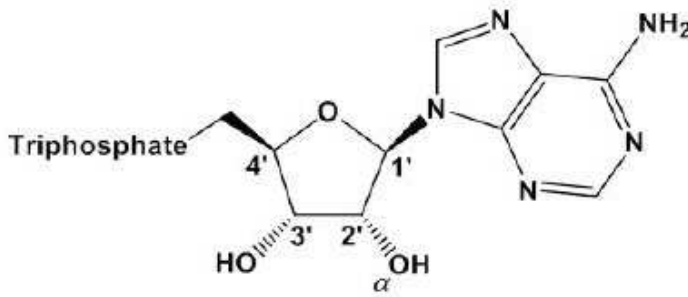
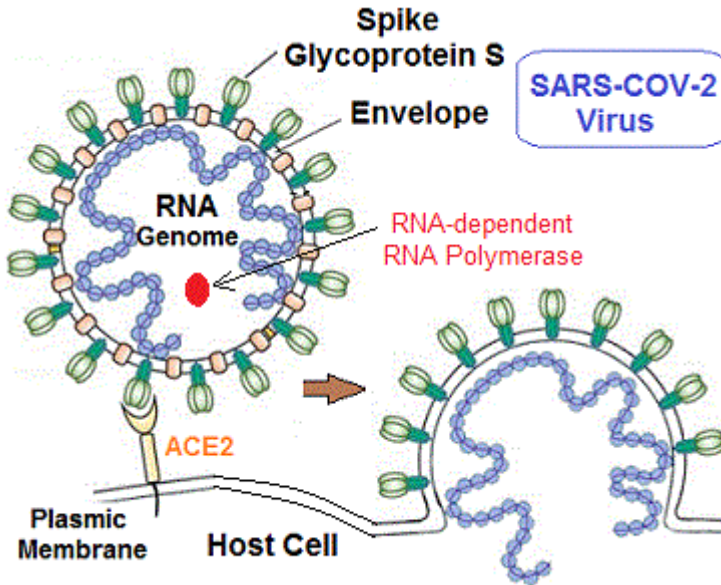
بإمكان العقاقير أن تصمم لتحدث خلا في مضاعفة الحمض النووي للفيروس و في هذا الإطار يجب التمييز بين الأحماض النووية للفيروسات، هل هي من نوع دن أ (DNA) أو ر ن أ (RNA).
تمتاز فيروسات الإيدز و كوفيد 19 بحمض ر ن أ (فيروسات قهقرية، Retrovirus).

للتذكير، يمكن فقط للفيروسات ب DNA أن تتضاعف في نواة الخلية باستخدام الأنزيمات الخلوية للنسخ. أما الفيروسات الأخرى فيجب أن يكون لديها أنزيمات خاصة بها. لهذا، من الممكن لفيروسات الحمض النووي الريبي أن تقوم بدورة تكاثر سيتوبلازمية، إذ لا يوجد أنزيم نووي للخلية

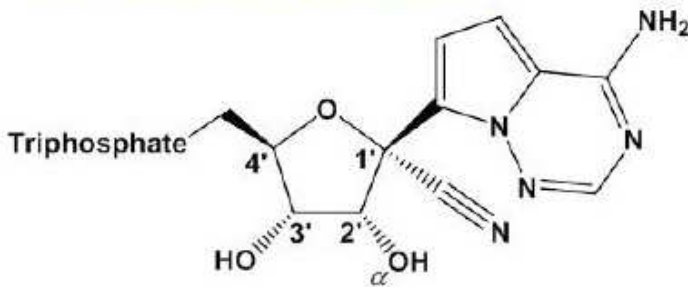
المضيفة يكون مفيدا لهذه الفيروسات في التضاعف أو النسخ. لحد الآن، لم يتم اكتشاف أي أنزيم بوليميراز RNA-RNA (RNA-dependent RNA polymerase, replicase) قادر على نسخ مقاطع طويلة من RNA في خلايا الثدييات. لذا تقوم فيروسات RNA بتركيب البوليميراز الخاص بها. للتذكير، تستعمل الفيروسات ب

ر ن أ ذو قطبية إيجابية (+) ك ر ن أ رسول يترجم مباشرة إلى بروتينات داخل ريبوزومات الخلية. أما الفيروسات ذات ر ن أ بقطبية سلبية (-)، فتجبر إلى تركيب ر ن أ بقطبية إيجابية (+) بواسطة الأنزيم الفيروسي، ر ن أ بوليميراز المعتمد على ر ن أ. آنذاك، يمكن تركيب البر وتينات.

حالة فيروس كوفيد 19. تصميم عقار Remdesivir



ATP (Adenosine triphosphate)



RDV-TP (Remdesivir triphosphate)

تعتبر فيروسات نقص المناعة المكتسبة والسارس CoV - 2 فيروسات مختلفة جدا. يتم نقلها بشكل مختلف، تتضاعف بشكل مختلف و تسبب المرض بشكل مختلف .

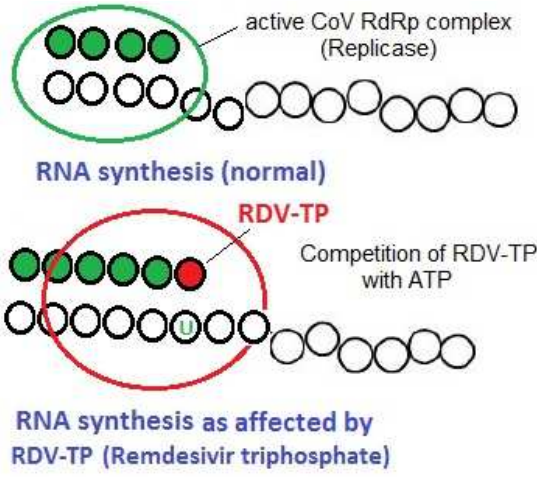
يحتوي كوفيد 19- على حمض نووي ريبوي وحيد السلسلة بقطبية إيجابية (+) مرتبط ببروتين نووي داخل كبسولة مؤلفة من بروتين ماتريكس. كوفيد 19- ينتمي إلى الفيروسات التاجية التي تعد كبيرة ومغلقة داخل غشاء دهني ولها جينوم كبير جدا (حوالي 30000 نيوكليوتيدات). يعد أنزيم RNA بوليميراز المعتمد على RNA (RdRp)، المسمى أيضاً nsp12 المكون المركزي لآلة التضاعف / النسخ للفيروس إذ يبدو هدف أساسي للعقاقير المضادة للفيروس.

أظهرت الأبحاث أن العقار ريمديسيفير (Remdesivir, RDV, GS-5734) يظهر نشاطاً مضاداً واسع النطاق ضد الفيروسات القهقرية. في شكله ثلاثي الفوسفات (RDV-TP)، يعتبر RDV نظيراً للأدينوزين ثلاثي الفوسفات (ATP).

في عام 2016 تم تطوير RDV كدواء تجريبي من المختبر الأمريكي Gilead Sciences لعلاج المرضى الذين يعانون من حمى الإيبولا النزيفية.

في عام 2017، تم أيضا عرض نشاطه ضد عائلة الفيروسات التاجية و الآن يتم تجربة Remdesivir كعلاج محتمل للفيروس

التاجي COVID-19.

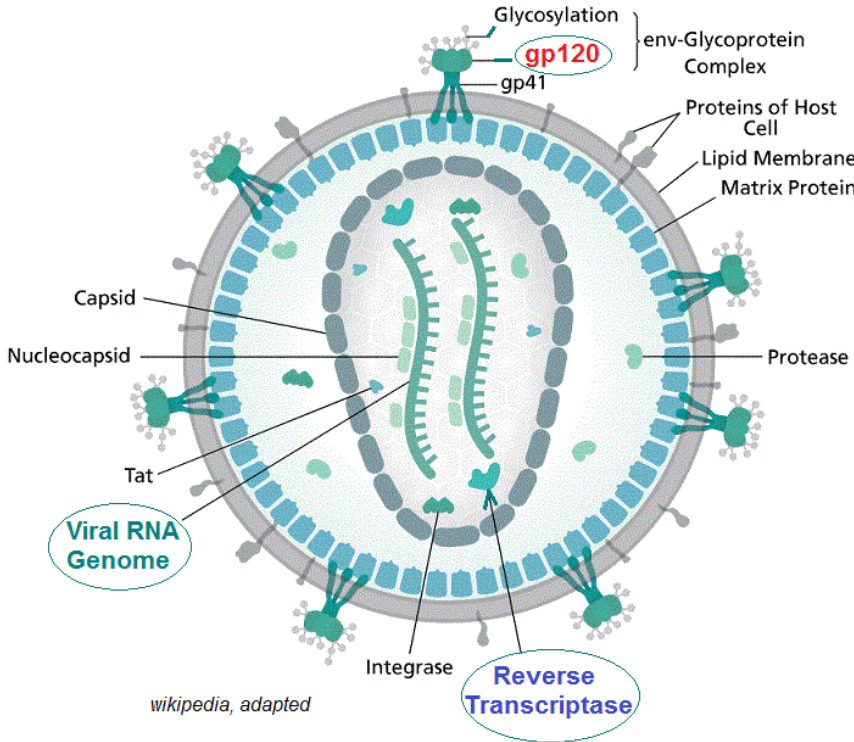


لقد كشفت دراسات حديثة أجريت على ر ن أ بوليميراز (أنزيم RdRps) لفيروس إيبولا (EBOV) والفيروس التاجي في الشرق الأوسط (MERS-CoV) أن آلية عمل RDV المحتملة تتجلى في وقف سلسلة تبلمر النيكليوتيدات حيث يقوم أنزيم RdRps بدمج RDV في شكله ثلاثي الفوسفات (RDV-TP) داخل RNA الفيروس، الشيء الذي يعيق متابعة البلمرة.

يبقى Remdesivir دواء موجه ضد تضاعف الحمض النووي الريبوزي لفيروس كورونا، حيث يتم استهداف مرحلة التضاعف و الإكثار في دورة الفيروس، علما أن هناك أدوية أخرى يتم تجربتها لاستهداف مراحل الارتباط و الدخول (تجربة أدوية الكلوروكين و الهيدروكسي كلوروكين).

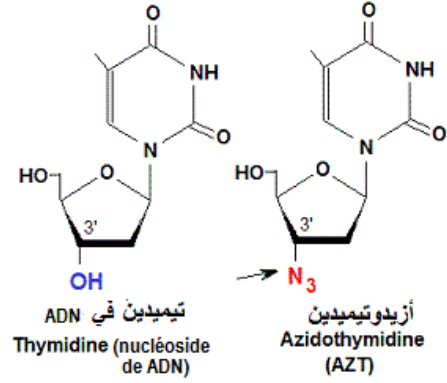
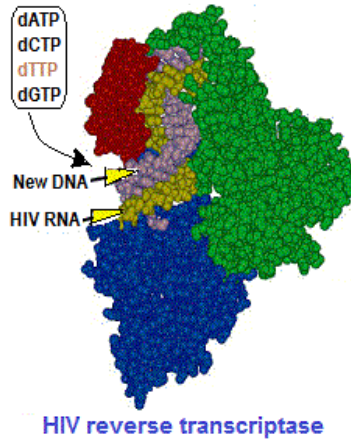
- روابط:
[-https://www.jbc.org/cgi/doi/10.1074/jbc.RA120.013679](https://www.jbc.org/cgi/doi/10.1074/jbc.RA120.013679)
[- https://www.jbc.org/content/early/2020/04/13/jbc.RA120.013679.full.pdf](https://www.jbc.org/content/early/2020/04/13/jbc.RA120.013679.full.pdf)

حالة فيروس نقص المناعة المكتسبة. تصميم عقار AZT



في حالة فيروس نقص المناعة المكتسبة، داخل سيتوبلازم الخلية المضيفة، يتم تحويل الحمض النووي الريبي الفيروسي (ر ن أ بقطبية إيجابية، +) إلى حمض نووي ريبوزي ناقص الأكسجين (DNA) بواسطة أنزيم النسخ العكسي الذي يتوفر عليه. بعد هذا، يدخل DNA الجديد نواة الخلية ليستخدم آلية الخلية في الإكثار، حيث ينتج ر ن أ رسول (mRNA) لصنع البروتينات الفيروسية ثم ر ن أ الفيروس بذاته.

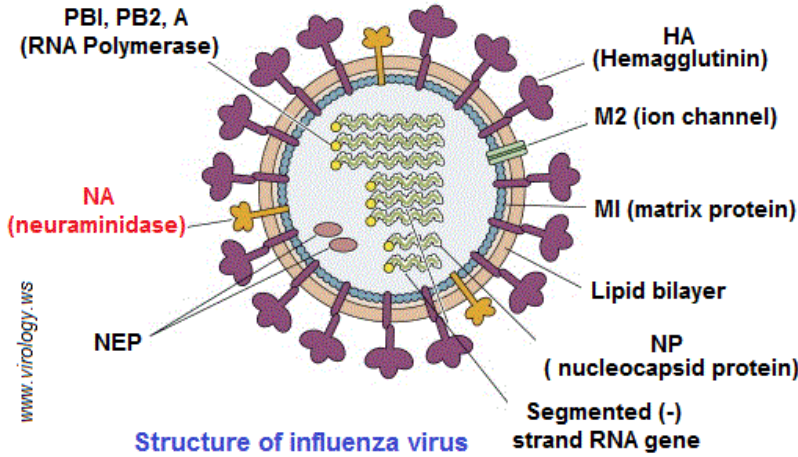
يعتبر عقار AZT (Azidothymidine, Zidovudine, ZDV) دواء مضادا للفيروسات القهقرية شكل أول استخدام لعلاج عدوى فيروس نقص المناعة المكتسبة (AIDS). وهو مثبط للنسخ العكسي ل RNA الفيروس الذي يتم بواسطة أنزيم النسخ العكسي (Reverse transcriptase, RT) الذي يتوفر عليه الفيروس. يسوق AZT تحت اسم Retrovir.



في الأصل صمم AZT لعلاج السرطان، لكنه لم يثبت فعاليته وكانت له آثار جانبية كبيرة. يعد AZT نظيراً للثيميدين حيث تم استبدال مجموعة الكحول عند 3' فوق الريبوز ناقص الأكسجين (deoxyribose) بمجموعة أزيد (N₃). بعد أن يدمج أنزيم RT جزئ AZT في السلسلة الجديدة لـ ن أ تتوقف عملية البلمرة و يحدث تثبيط للتكاثر الفيروسي. للتذكير، نجد كذلك مجموعة أزيد في عقار Remdesivir الذي يتم تجريبه حالياً ضد كورونا كوفيد-19.

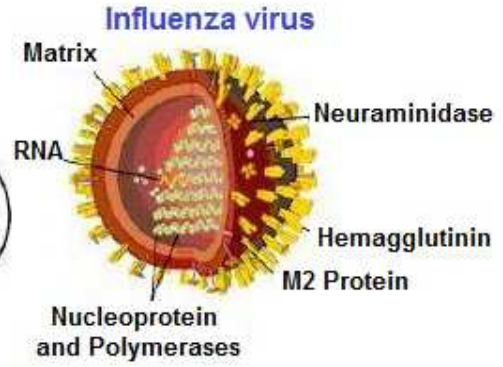
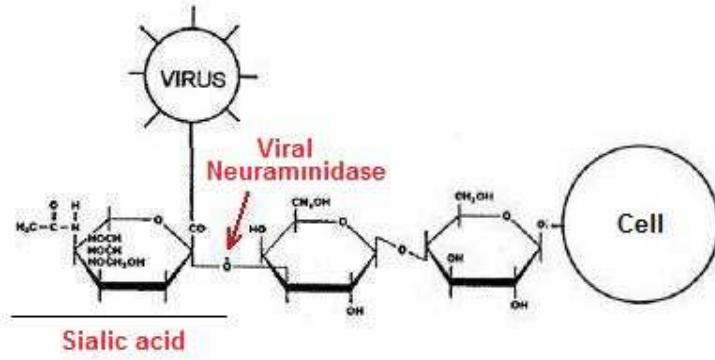
- روابط:
- <http://www.takween.com/JMOL/medicaments-drogues-visualisation.html>
 - <http://www.takween.com/enzymologie/enzymes-inhibiteurs-applications.html>
 - <https://youtu.be/EopRe8VVA5U> (فيديو)

حالة فيروس الأنفلونزا. تصميم عقار Oseltamivir



فيما يخص فيروس الأنفلونزا (الزكام)، فيعد فيروساً مغلفاً، حيث أن الطبقة الخارجية عبارة عن غشاء دهني مأخوذ من الخلية المضيفة التي يتكاثر فيها الفيروس داخل الغشاء الدهني توجد بروتينات سكرية تشكل "المسامير" (spikes)، وهي من نوع هيماجلوتينين (hemagglutinin, HA) و نورأمينيداز (neuraminidase, NA).

تحدد هذه البروتينات النوع الفرعي لفيروس الأنفلونزا (A / H1N1 ، كمثل). يشكل بروتين NA هدفاً للأدوية المضادة للفيروسات Relenza و Tamiflu. عكس الفيروسات التي تقوم بتضاعف ر ن أ في سيتوبلازم الخلية المضيفة، يشكل فيروس الأنفلونزا (ر ن أ بقطبية سلبية، -) استثناءً حيث يتضاعف ر ن أ داخل نواة الخلية. يمتاز أنزيم نورامينيداز الفيروسي بأهمية كبيرة في ارتباط الفيروس بالخلية المضيفة، إذ يوجد في غلاف فيروسات الأنفلونزا ويسمح لها بالانفصال عن الخلية. يقوم أنزيم نورامينيداز بفصل بقايا حمض السياليك (Sialic acid) عن البروتينات السكرية. أثناء تكاثره، يلتصق فيروس الأنفلونزا بسطح الخلية باستخدام الهيماجلوتينين (Hemagglutinin)، الموجود على سطح الفيروس والذي يرتبط ببقايا حمض السياليك. توجد أحماض السياليك على بروتينات سكرية مختلفة على سطح الخلايا المضيفة، مما يسمح لفيروسات الأنفلونزا بالارتباط بهذه الخلايا.

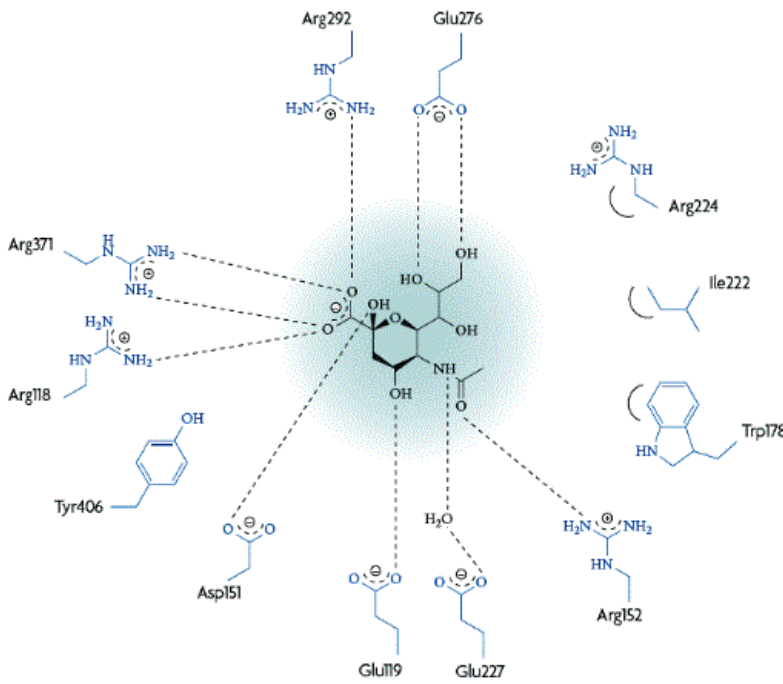


من أجل فك ارتباط الفيروسات الجديدة و السماح لها للانتقال إلى خلايا جديدة، يجب أن يتدخل أنزيم النورامينيداز الفيروسي لفك بقايا حمض السياليك من البروتينات السكرية التي ترتبط به. لذا فإن مثبطات

نورامينيداز تعد معوقات أنزيمية (Enzyme inhibitors) مضادات للفيروسات وفعالة ضد الأنفلونزا لأنها تمنع تكاثر الفيروس.

يعد أنزيم النورامينيداز ثاني بروتين سكري رئيسي موجود على سطح الفيروس. وهو عبارة عن مركب رباعي متجانس (homotetramer) يزن حوالي 240 كيلو دالتون ويظهر في شكل فطر.

يتكون كل مونومير من 4 مناطق: الذيل السيتوبلازمي الثابت، المجال الغشائي، منطقة خطية تسمى 'القدم'، ومنطقة كروية، تسمى 'الرأس'.

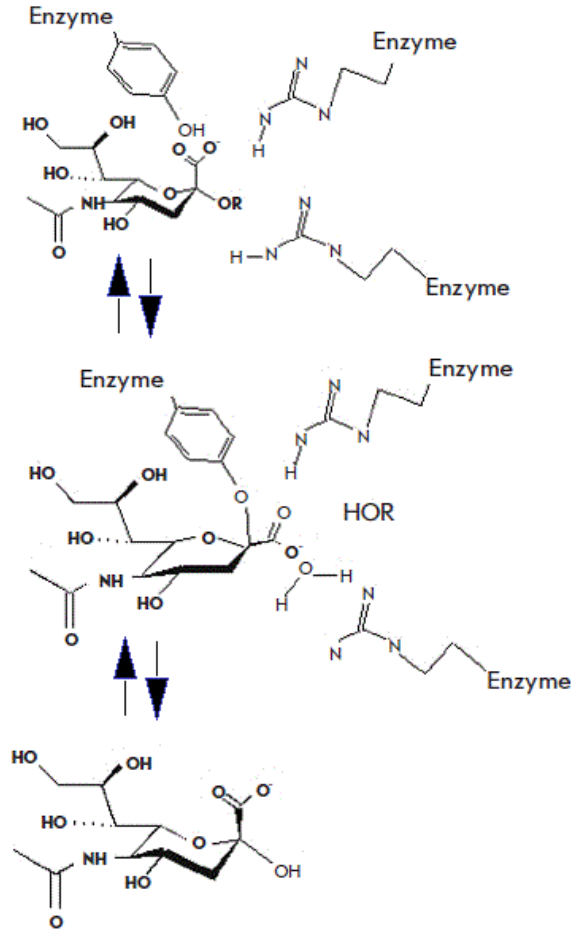


Neuraminidase active site. Interactions between aminoacids and sialic acid
الموقع النشط لأنزيم نورامينيداز. تفاعل الأحماض الأمينية للموقع النشط مع الحمض السيالي
von Itzstein, 2007, Nat Rev Drug Discov

الرأس الكروي (200 كيلو دالتون) يرتبط بالقدم الذي يلج الغشاء الفيروسي. في أنزيم النورامينيداز تتفاعل ثمانية أحماض أمينية للموقع النشط مباشرة مع مادة الأساس (الحمض السيالي) و هي Glu 276، Arg 292، Tyr 406، Arg 118، Arg 152، Asp 151، Glu 119، Glu 277.

بعد ولوج الحمض السيالي للموقع النشط للأنزيم، يتغير شكله من الكرسي إلى نصف الكرسي، و يتم تكوين أيون أوكسوكربينيوم بسبب التفاعلات الأيونية القوية بين كربوكسيل مادة الأساس ومجموعات الغوانيديوم في الأحماض الأمينية من نوع أرجينين رقم 118، 292 و 371 التي تنتمي إلى الأنزيم، مما يؤدي في النهاية إلى انشقاق الرابطة الجليكوزية.

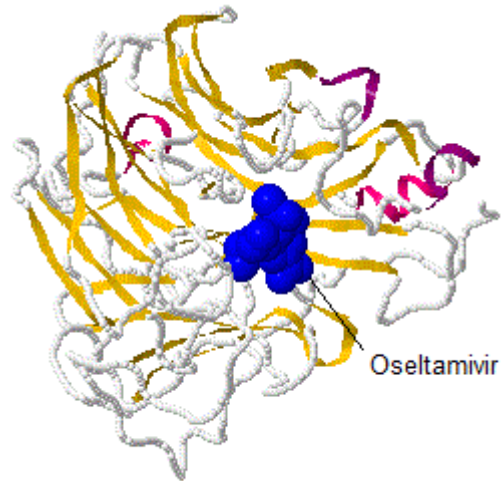
في بعض المرات قد تحدث طفرات في أنزيم نورامينيداز للفيروس و يصبح مقاوما للأدوية الموجهة لكبح نشاط NA. ففي يناير 2008 حصل هذا الوضع بشكل كبير، إذ طورت بعض فيروسات إنفلونزا H1N1 مقاومة للأوسيلتاميفير بسبب طفرة His274Tyr في أنزيم NA، وأصبحت المقاومة عند الفيروس في موسم الوباء من 2008-2009 تصل إلى 100٪.



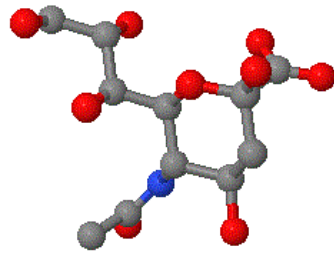
Influenza virus neuraminidase.
Mechanism of substrate desialylation
Shtyrya et al. Acta naturae 2 (2009)

تبين للباحثين أن بنية الموقع النشط للنورامينيداز ثابت بشكل كبير، ليس فقط بين الأنواع الفرعية للفيروس، ولكن أيضا بين أنواع الأنزيم، مما دفع الباحثين إلى تصميم مماثلات بنيوية لحمض السياليك لتنشيط نشاط الأنزيم.

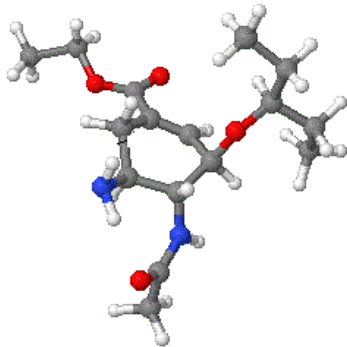
بحضور المثبط الأنزيمي Oseltamivir يتقلص النشاط الأنزيمي و يبقى الفيروس مرتبطا بسكريات الخلية المضيفة و بالتالي لا يمكنه الانتقال إلى خلايا جديدة أخرى.



Neuraminidase-Oseltamivir. Complex



Sialic acid



Oseltamivir (TAMIFLU)

من بين العناصر الهيكلية الرئيسية لفئة من المثبطات (بدون ذرة الأكسجين في حلقة الحمض السيالي) هي الهكسان الحلقي (سيكلوهيكسان) و البنتان الحلقي (سيكلوبنتان).

انطلاقا من السيكلوهيكسان ، جاءت فكرة الأوزيلتاميفير (Oseltamivir, TAMIFLU). بعدها تم تعديل بنية هذا الجزيء للتفاعل مع الأحماض الأمينية للموقع النشط.

حفز الاستخدام الناجح لهذا الدواء تطوير مثبطات NA جديدة بإدراج مجموعات نافرة للماء (Hydrophobic groups) في بنية الجزيء.

موازة مع تطوير المثبطات انطلاقا من الهيكسان الحلقي، تم تطوير مثبطات NA على قاعدة هيكل السيكلوبنتان تحتوي على جميع الأجزاء المهمة وظيفيا والتي تتناسب مع الموقع النشط للأنزيم. هكذا ظهر عقار zanamivir.

بما لا شك فيه، يتطلب هذا العمل تعاوننا قويا بين باحثي الكيمياء (كيمياء التخليق) و باحثي البيولوجيا (البيوكيمياء).

<http://www.takween.com/JMOL/grippe-influenza-neuraminidase.html>

<https://www.takween.com/corona-covid-19-influenza-aids-virus.html>

<https://www.takween.com/corona-covid-19-influenza-aids-virus.pdf>

روابط:

صفحة على الشبكة:

تحميل ملف PDF :