



Finding the Relationship Between the Biological Dagradtion Rate Constants and Some of the Calculated Physical Properties of a Number of Carcinogenic poly Aromatic Hydrocarbons

Rayan Basheer Mahmood

Zaheda Ahmed Najim

Chemistry Department / College of Education for Pure Science
University of Mosul

rayan.mahmood@gmail.com

zahedahmed@uomosul.edu.iq

DOI: [10.33899/edusj.2019.162976](https://doi.org/10.33899/edusj.2019.162976)

Received
28 / 11 / 2018

Accepted
27 / 02 / 2019

Abstract

This study involves the theoretical calculation of binding energy (the free energy ΔG°) of eleven of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) compounds with catechol 1,2-dioxygenase enzyme from the gram-positive *Rhodococcus opacus* (3HGI) enzyme that is used for degrading these types of compounds and also identifies the values of binding energy that compactable with constant values of biological degradation rate. It is noted that binding energy inversely proportional with rate constants and binding energy ($R=0.951$), as the binding energy with enzyme are increased, the degradation rate are decreased.

The study observes that binding energy values were ranging between ($[-5.051]$ - $[-7.12]$ Kcal/mol) whereas values of root mean squared deviation (RMSD) were ranging between ($1.12-1.71\text{\AA}$) by which accurate results have been confirmed depending on previous studies. The study also determines the amino acids that surround the compounds which are usually blinded by the hydrogen bond or hydrophobic interactions types $\pi-\pi$.

Finally, the study obtains a three – dimensional shape of compound's binding with enzyme of its more stable shape. Also obtains the shapes of distribution of the electronic cloud on the compound and amino acids that are surrounding them in which getting locations around the studied compound's molecule depending on their features of an amino acid (acidity – basic – hydrophobic). MOE (Molecular Operating Environment) is used for this step of calculation.

Keywords: Binding energy (ΔG°), Poly aromatic hydrocarbons (PAHs), Biological degradation rate constants, Amino acids, Enzyme catechol 1,2-dioxygenase (3HGI).

إيجاد العلاقة بين ثوابت سرعة التحلل البيولوجي وبعض الصفات الفيزيائية المحسوبة نظرياً لعدد من المركبات الأروماتية الهيدروكربونية متعددة الحلقات المسببة للسرطان

ريان بشير محمود
زاهدة احمد نجم
قسم الكيمياء / كلية التربية للعلوم الصرفة
جامعة الموصل

zahedahmed@uomosul.edu.iq rayan.mahmood@gmail.com

DOI: [10.33899/edusj.2019.162976](https://doi.org/10.33899/edusj.2019.162976)

القبول
2019 / 02 / 27

الاستلام
2018 / 11 / 28

الخلاصة

تضمنت هذه الدراسة حساب طاقة الارتباط (الطاقة الحرة) لأحد عشر مركباً من المركبات الهيدروكربونية متعددة الحلقات مع أنزيم كاتيكول 2,1 - ثنائي أوكسجينز 3HGI الذي يعد أحد الأنزيمات المحللة لهذا النوع من المركبات والحصول على نتائج لقيم طاقة الارتباط تتوافق مع قيم ثوابت سرعة التحلل الحيوي إذ وجد بأن طاقة الارتباط تتناسب عكسياً مع ثوابت السرعة وبمعامل ارتباط ($R=0.951$) إذ إنه بزيادة طاقة الارتباط مع الأنزيم تقل سرعة التحلل.

يلاحظ إن قيم طاقة الارتباط تتراوح بين (-5.051 Kcal/mol)-(-7.12 Kcal/mol) في حين إن قيم معدل الجذر التربيعي للانحراف القياسي RMSD تتراوح بين ($1.12-1.71\text{Å}$) والتي من خلالها اثبتت دقة النتائج استناداً إلى دراسات سابقة وتم أيضاً تحديد الأحماض الأمينية التي تحيط بالمركب والتي عادة ما ترتبط به بأواصر هيدروجينية أو تداخلات هيدروفوبية من نوع $\pi-\pi$.

وفي النهاية تم الحصول على الشكل ثلاثي الأبعاد لارتباط المركبات مع الأنزيم بهيئتها الأكثر استقراراً وكذلك الحصول على أشكال توزيع السحابة الالكترونية على المركبات والأحماض الأمينية المحيطة بها والتي تأخذ مواقعاً حول جزيئة المركب المدروس استناداً إلى صفاتها كأحماض أمينية حامضية، قاعدية، هيدروفوبية (قطبية أو غير قطبية). واستعمل في هذه المرحلة من الحسابات برنامج (Molecular Operating MOE .Enviroment).

الكلمات المفتاحية: طاقة الارتباط (ΔG°), الهيدروكربونات الأروماتية متعددة الحلقات, ثوابت سرعة التحلل الحيوي, الأحماض الأمينية, أنزيم كاتيكول 2,1 - ثنائي أوكسجينز.

Introduction

المقدمة

1-1 الهيدروكربونات الاروماتية متعددة الحلقات :

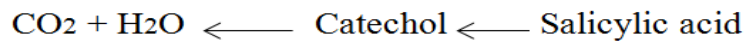
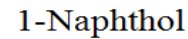
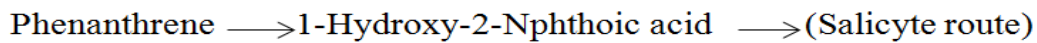
هي مركبات كيميائية تتكون من حلقات اروماتية مدموجة ولا تحتوي على ذرات متغايرة ولا يوجد مستبدلات والمعروف عن هذه المركبات انها مواد مسرطنة تنتج من احتراق غير كامل للوقود المحتوى على كربون مثل الخشب, الفحم, الديزل, الشحوم, التبغ⁽³⁻¹⁾, ومن الخواص الفيزيائية لهذه المركبات انها كارهة للماء و محبة للزيوت, وهذا يعني انها نادرة الذوبان بالماء, ولهذا فهي دائماً توجد في التربة والمواد الزيتية ومن خواصها ايضاً انها تتطاير في الهواء ملوثة اياه, وكلما زاد حجم المركب ازدادت لديه خاصية التطاير وقل ذوبانه في الماء⁽⁴⁾.

2-1 ميكانيكية التحلل (التكسير) الحيوي لمركبات PAHs :

الأنزيمات عبارة عن مواد بايولوجية محفزة (مساعدة) تقوم وبكميات قليلة بزيادة سرعة التفاعلات الكيميائية عن طريق تقليل طاقة التنشيط والتي تحدث داخل الخلية الحية (نباتية او حيوانية) وبدون إن تتغير خلال هذه التفاعلات.

تحتوي جميع الأنزيمات على منطقة تسمى الموقع الفعال (Active site). إن القوى التي تربط المادة الأساس بالموقع الفعال تكون ضعيفة نسبياً وبهذا يكون تحرر النواتج من على سطح الأنزيم بعد اكتمال التفاعل سهلاً . تحدث عملية التحلل الحيوي لمركبات PAHs في التربة نتيجة لوجود بكتيريا حاوية على أنزيمات يتم فيها انتقال الالكترونات والتي يطلق عليها أنزيمات الأكسدة الحيوية Biological oxidation والتي تدعى الديهيدروجيناز Dihydrogenase وهي من نوع أنزيمات الأكسدة والاختزال الحاوية على الموقع الفعال المتمثل بأيون الحديدك Fe^{+3} الذي من خلاله يتم حصول عملية الأكسدة والاختزال للمركبات المدروسة⁽⁵⁾.

تمت دراسة مسار الفيناثرين عن طريق بكتيريا (Gram Positive Rhodococcus Opacus 1Cp) Nocardioides والذي يتبع بمسارين الأول مسار تكون النفتالين والثاني مسار تكون السالسليك وتستمر عملية الأكسدة لحين تحول جميع المركب إلى غاز ثنائي أوكسيد الكربون والماء⁽⁶⁾. وكما موضح في المخطط (1-1).



المخطط (1-1): ميكانيكية تحلل الفيناثرين إلى ثنائي أوكسيد الكربون والماء⁽⁶⁾

Biodegradation Constant

3-1 ثابت سرعة التحلل (التكسير) الحيوي

تعد عملية التحلل الحيوي أو التكسير الحيوي من تفاعلات الرتبة الأولى أو الرتبة الأولى الكاذبة ويمكن تحديد ثابت سرعة التحلل استناداً إلى العلاقة^(8,7) :

$$-\frac{dc}{dt} = kc^n \quad \dots\dots\dots (1)$$

$$\text{Log} \frac{c}{c_0} = k.t \quad \dots\dots\dots (2)$$

C: تركيز المادة الأبتدائي (mg/L)

C_0 : تركيز المادة بعد فترة من الزمن (mg/L)

t : الزمن (day^{-1})

k: ثابت سرعة تحلل المادة (PAH) (day^{-1})

n : رتبة التفاعل

ويمكن الحصول على قيمة k_b (ثابت سرعة التحلل الحيوي) عن طريق رسم العلاقة بين $\log \frac{C}{C_0}$

مقابل الزمن⁽⁹⁾.

وتعد عملية التحلل عملية فيزيوكيميائية تحدث في التربة ومياه الانهار والبحار إضافة إلى إنها تحدث في جسم الانسان عند تعرضه لمثل هذه المواد الكيميائية وتعد من أكثر الدراسات شيوعاً بسبب تجانس الاطوار (طور التربة الصلب) مع المادة الهيدروكربونية الصلبة.

وتعتمد عملية إزالة هذه المركبات (تحللها) على جهد التأين للمركب إضافة إلى إن دراسة حركية هذه العملية يعتمد على عدة عوامل منها درجة الحرارة وتوافر المادة في التربة (تركيز المادة) وامتصاص المادة من قبل التربة وعملية التهوية (وجود مادة الاوكسجين) وتوفر البكتيريا المحللة الحاوية على أنزيمات الأكسدة (12,11,10).

Docking Calculation

4-1 تشكيل المركب على الأنزيم

تعد طريقة دراسة تشكيل (تحميل) المركب على البروتين أو الأنزيم من الدراسات الحاسوبية والنظرية المهمة التي تصف عملية ادخال جزيئة مركب ما على البروتين أو الأنزيم كخطوة أولية لدراسة فعالية مركب معين كدواء أو كمادة سامة تعمل على تنشيط أو تثبيط عمل الأنزيم مؤدية إلى معالجة أو اصابة الخلية أو الجسم بصورة عامة بحالة مرضية معينة (الانقسام العشوائي للخلية المؤدية إلى الاصابة بالأمراض السرطانية) وتقع جميع هذه الدراسات أو البرمجيات تحت مسمى تصاميم الأدوية (Drug design)⁽¹³⁾

إن المبدأ الأساسي الذي تعتمد عليه هذه البرمجيات هو ارتباط المادة بالأنزيم المستهدف حيث إنه لا يمكن لأي مركب التأثير على الجسم ما لم يتم امتصاصه ومن ثم ارتباطه بشكل فعال مع الأنزيم وعليه تنقسم البرمجيات من حيث المبدأ إلى قسمين اساسيين الأول يعتمد على حساب الخصائص الفيزيائية والكيميائية والثاني يعتمد على حساب الخواص السمية والذوبانية في الماء وسرعة الامتصاص في الامعاء والتوزيع في الدم وعمليات الايض في الكلية وطرح المخلفات عن طريق البول أو البراز ومن البرمجيات التي تختص بهذا النوع من الدراسات برنامج (ADMET) المستعمل بشكل واسع في الكيمياء الصيدلانية Adsorption Distribution Metabolism Excretion and Toxicity^(15,14) وبرنامج Docking المستعمل في مجال الكيمياء وعلوم الحياة إضافة إلى استعماله في الكيمياء الصيدلانية.

يعد الميكانيك الحركي Dynamic Mechanics (DM) والميكانيك الجزيئي Molecular

Mechanics (MM2) القاعدة الأساسية التي يعتمد عليها هذا النوع من البرمجيات إضافة إلى ميكانيك الكم

(Quantum Mechanics) (QM) إذ يتم وصف النظام المدروس المكون من المركب المراد دراسة تأثيره أو

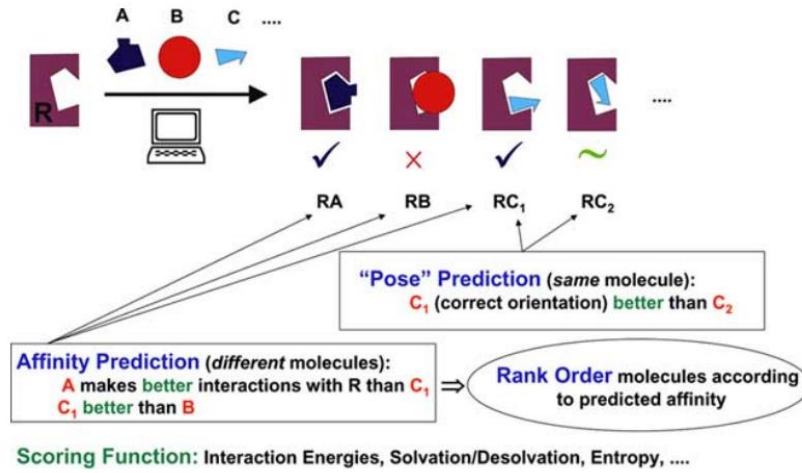
فعالته على أنزيم معين عن طريق حساب طاقة المجال للجزيئة (Molecular Force Field) والتي تعتمد

على خمس أساسيات جميعها تفسر الخواص الفيزيائية للنظام وهي: طاقة الجهد Potential energy الألتواء

Torsional term وتشكيل الأواصر Bond geometry الكهروستاتيكية Electrostatic terms وجهد لينارد

– جون^(17,16)

تم تطوير طريقتين لحساب تشكيل (تحميل) المركب على الأنزيم الطريقة الأولى تعتمد على كون الأنزيم مادة صلده (غير متحركة) (Rigid) وتحسب من خلالها طاقة الارتباط ونظراً لكون الأنزيمات متحركة في الجسم الحي Flexible فقد تم التوصل إلى طريقة اقرب للواقع وذات نتائج أكثر دقة من خلال استعمال برمجيات متطورة تعتمد على تحريك الأنزيم في المحيط المائي بالاتجاهات الثلاثة ونتيجة لهذه الحركة تتغلغل جزيئات المركب داخل التجاويف الموجودة في الأنزيم⁽¹³⁾ ويمكن توضيح العملية بالشكل (1-1):



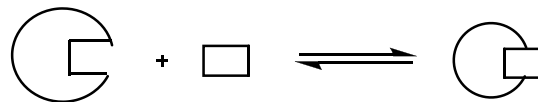
الشكل (1-1): يوضح ارتباط الأنزيم بالمادة (R(Receptor) - وتمثل المستقبل), اما C,B,A - تمثل جزيئات صغيرة يتم تثبيتها على جزيئة المستقبل⁽¹⁸⁾.

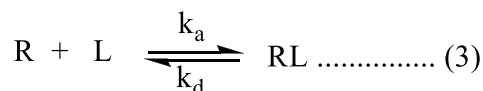
في عام (2014) قام الباحث شارما بدراسة عملية ارتباط الأنزيم البكتيري (3HGI) و(2XSR) من نوع (1,2-dioxygenase)⁽¹⁹⁾ التي لها القابلية على الارتباط بالمركبات الهيدروكربونية متعددة الحلقات ومن خلال هذه الدراسة التي اجريت على مركبي Benzo[a]pyrene و Chrysene تم حساب طاقة الارتباط ΔG° ووجد بأن طاقة الارتباط كانت (-7.36 Kcal/mol) و (-6.8 Kcal/mol) مع أنزيم 3HGI (و -6.1 Kcal/mol) و (-7.09 Kcal/mol) لأنزيم (2XSR) على التوالي. ومن خلال هذه النتائج تبين بأن مركب (Benzo[a]pyrene) يرتبط بشكل أفضل من مركب Chrysene مع أنزيم (Dioxygenase [Rhodococcus opacus]) (3HGI) [Catechol 1,2-dioxygenase] في حين إن المركب الاخير كان أفضل ارتباطاً مع أنزيم (Dioxygenase [Acinetobacter radioresistens]) (2XSR) ومن هذا يمكن تحديد الأنزيم المستعمل لتحليل مادة معينة أو معرفة تأثيرات المركبات المختلفة على الأنزيم.

Binding energy (ΔG°)

5-1 طاقة الارتباط⁽²⁰⁾

إن الغاية الأساسية لحساب طاقة الارتباط أو الطاقة الحرة ΔG° هي معرفة مدى قابلية الأنزيم على الارتباط بالمركب وسرعة تحلله حيث إنه كلما زادت قيمة ΔG° كان المعقد الناتج أقل استقرار مما يؤدي إلى حدوث عملية التحلل بفترة زمنية أقل مقارنة بالمركبات الاخرى ذات طاقات الارتباط القليلة. تمثل طاقة الارتباط بالطاقة الحرة لجس التي يمكن حسابها باستعمال العلاقة التالية :





$$\Delta G^\circ = - R T \ln K_a \dots\dots\dots(4)$$

$$k_a = k_d^{-1} = \frac{[RL]}{[R][L]} \dots\dots\dots (5)$$

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \dots\dots\dots(6)$$

من اهم العوامل المؤثرة على قيمة طاقة الارتباط ΔG° في مثل هذا النوع من الحسابات هي:

1. القوى الداخلية (Inter molecular forces)

تكون هذه القوى قوى ترابطية أو تآصيرية يمكن تحديدها من خلال قياس اطوال الأواصر والزوايا Bond lengths, Bond angles, Dihedral angles .

2. القوى الخارجية (Intra molecular forces)

وتكون هذه القوى غير ترابطية وتمثل التداخلات الألكتروستاتيكية electrostatic interactions والتداخلات القطبية Polar interactions والأواصر الهيدروجينية H-bonding تداخلات فاندرفالز, الهيدروفوبية (الكارهة للماء) أو الدهنية (hydro phobicity)

يمكن التأكد من دقة نتائج الطاقة الحرة (طاقة الارتباط) المحسوبة بعد اجراء عملية تشكيل (تحميل المركب على الأنزيم) من خلال حساب قيمة الجذر التربيعي لمعدل الانحراف عن المستوي Root Mean Squared Deviation (RMSD) باستعمال المعادلة التالية:

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (X_{ci} - X_{di})^2 + (y_{ci} - y_{di})^2 + (Z_{ci} - Z_{di})^2} \dots\dots\dots(7)$$

N = عدد الذرات للمركب

C_i, d_i = الذرات المرتبطة مع بعضها بأصرة.

أفضل النتائج يتم الحصول عليها من عملية (Docking) في مثل هذا النوع من الحسابات هي عندما تكون قيمة RMSD اقل من (2.0\AA) والتي تمثل انحراف الأصرة عن المستوى للمركب المدروس مقارنة بالقيم المرجعة التي يتضمنها البرنامج والمكون على الاقل من 250 مركب مشابه للمركب المدروس⁽²¹⁾.

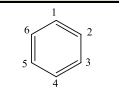
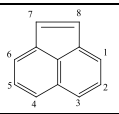
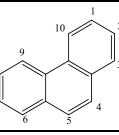
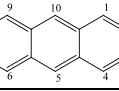
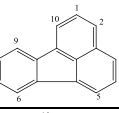
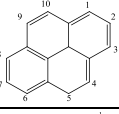
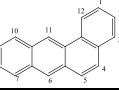
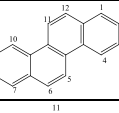
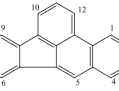
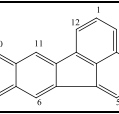
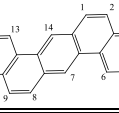
Theoretical Calculation

2- الحسابات النظرية

تتضمن الحسابات النظرية اختيار أحد عشر مركباً من المركبات الاروماتية متعددة الحلقات والموضحة صيغها وقيم ثوابت سرعة التحلل الحيوي لها في الجدول (1-2)⁽²²⁾ والتي تمت دراستها بطريقة عملية تضمنت استخدام بكتيريا تسمى Gram Positive Rhodococcus opacus منتجة لأنزيم كاتيكول 2,1- ثنائي أوكسجينز (3HGI) الذي يساعد على تحلل المركبات المذكورة اعلاه وبعدها تم استخدام ثوابت السرعة المستحصلة كعامل معتمد مقابل طاقة الارتباط المحسوبة نظرياً باستعمال برمجيات فيزيائية.

الجدول (1-2): الأسماء والصيغ التركيبية وقيم ثوابت سرعة التحلل الحيوي للمركبات الاروماتية متعددة الحلقات⁽²²⁾

الرقم	اسم المركب	الرمز	الصيغة التركيبية	Biodeg Rate K_b [day ⁻¹]	Molecular weight
-------	------------	-------	------------------	--	------------------

الرقم	اسم المركب	الرمز	الصيغة التركيبية	Biodeg Rate K_b [day ⁻¹]	Molecular weight
1	Benzene	BEN		0.1	78
2	Acenaphthylene	ACY		0.02	152.20
3	Phenathrene	PHN		0.0447	178.2
4	Anthracene	ANTH		0.0052	178.2
5	Fluoranthene	FLN		0.0018	202.26
6	Pyrene	PYR		0.0027	202.3
7	Benzo [a] anthracene	BaA		0.0026	228.29
8	Chrysene	CHR		0.0019	228.3
9	Benzo [b] fluoroanthene	BbFN		0.0024	252.3
10	Benzo [k] fluoroanthene	BkFN		0.0005	252.3
11	Dibenzo[a,h]anthracene	DBahA		0.0019	278.35

1-2 طريقة حساب طاقة الارتباط مع الانزيم

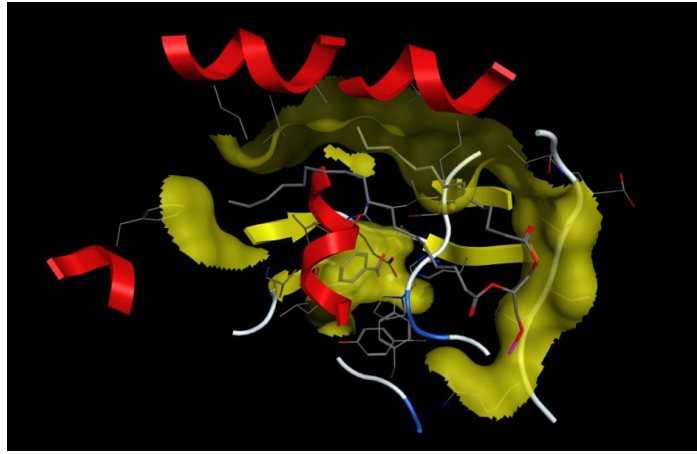
Calculation Method of Energy Bonding with Enzyme

هناك عدة برمجيات تختص بدراسة تشكيل (تحميل) المركب على الأنزيم أو ما يسمى بعملية (Docking) الا إن هناك مبدأ أساسي تعتمد عليه هذه البرمجيات على اعتبار إن الفعالية السمية للمركب ناشئة عن الارتباط بين المركب والأنزيم المستهدف وتختلف مسميات البرامج وكذلك سهولة أو صعوبة استعمالها ومنها ما يتوفر كنسخ تجريبية ومنها ما يتم الاشتراك السنوي مع شركات انتاج هذه البرامج للحصول على نسخة يتم تجديدها سنوياً ومن هذه البرامج (Chem Draw, Math Mol, Pay Mol, Autodock, MOE, Swissdock) ويحتاج العمل في هذه البرامج على حاسبات متطورة ذات سعة خزن عالية ومعالج بمواصفات خاصة.

في هذه الدراسة تم استعمال برنامج MOE (2015) (Molecular Operating Enviroment).

تتضمن خطوات العمل على هذا النوع من البرامج ما يلي:

رسم المركب على الأنزيم وإجراء عملية خفض الطاقة (Minimization) ثم حساب الشحنات وإطوال الأواصر والزوايا. وتجهيز الأنزيم المستهدف من خلال استدعائه اما من اقراص خاصة حاوية على الأنزيمات المدروسة بشكل متكامل من حيث تركيب الأنزيم ثلاثي الابعاد اضافة الى ملف خاص يحتوي على بيانات كاملة عن الأنزيم من حيث اطوال الأواصر والزوايا المستحصلة من قياس حيود الاشعة السينية للأنزيم أو إن يتم استدعاء الأنزيم من مصدره الرئيس المعروف عالمياً ببنك بيانات البروتين (Protien Data Bank) PDB وفي هذه الدراسة استعمل انزيم بكتيري من نوع كاتيكول 2,1 - ثنائي اوكسجينز -Catechol 1,2-dioxygenase والذي يرمز له بـ (3HGI) والمستخلص من بكتيريا Gram Positive Rhodococcus opacus. وتحديد الموقع الفعال (Active site) على الأنزيم الذي له القابلية على استقبال المركب المدروس والتأصر معه. وفي هذه الدراسة تم تحديد ايون الحديدك (Fe^{+3}) كموقع فعال لحصول عملية الأكسدة⁽¹⁸⁾. واستعمل ايعاز Dock الموجود ضمن البرامج التي من خلالها يتم اجراء أكثر من مئة (100) محاولة يتغير فيها موقع المركب على طول سلسلة الأنزيم للحصول على أفضل موقع ارتباط وبطاقة أقل ما يمكن بحيث تتراوح قيمة معدل الجذر التربيعي للانحراف بين (0-2). وبعد الانتهاء تظهر النتائج على شكل جداول تبين قيم طاقة الارتباط ومعدل الجذر التربيعي للانحراف. وبعد الحصول على النتائج يتم استعمال بعض اليعازات للحصول على صورة المركب المرتبط مع الأنزيم بحالته النهائية ثلاثية الابعاد, ومن ثم تحديد الأحماض الأمينية المحيطة وطبيعة تأصرها مع المركب.



الشكل رقم (1-2) : شكل ثلاثي الأبعاد لأنزيم كاتيكول 2,1 - ثنائي أوكسجينز 3HGI

Results and Discussion

3 - النتائج والمناقشة

تستعمل الكائنات الحية الدقيقة مثل البكتيريا كمعالجات حيوية بايولوجية لتحطيم الجزيئات الهيدروكربونية متعددة الحلقة PAHs نظراً لاحتوائها على أنزيمات لها القابلية على أكسدة هذا النوع من المركبات وتحويلها إلى جزيئات أوكسجينية صغيرة ويعد أنزيم كاتيكول 2,1 - ثنائي أوكسجينز 3HGI أحد أنواع أنزيم 1,2-dioxygenase البكتيري وهو أنزيم مؤكسد - مختزل ينتج من قبل نوع من البكتيريا يطلق عليها Gram Positive Rhodococcus opacus إذ يعمل هذا الأنزيم على كسر أصرة كربون - كربون بوجود الأوكسجين مكوناً مركبات أوكسجينية وكاتيكولات.

من خلال البيانات المستحصل عليها من قبل بنك المعلومات للبروتين PDB تبين بأن أنزيم 3HGI مكون من سلسلة واحدة مكونة من 280 حامض أميني (Chain A) يحتوي على اربع مواقع فعالة وهي ايون الحديد الثلاثي (Fe^{+3}). سلسلة (281) وايون الكربونات $CO_3^{=}$ (282) وحامض البنزويك (BEZ) $C_7H_6O_2$ (283) ومركب (284) 6PL ($C_{42}H_{85}O_8P$) 4-hydroxy, N,N,N-Trimethyl, OXO-7-[palmitoyloxy (methyl)]-3,5,8TrioxA-4-phosphahexacosan-1-Aminium 4-oxide وتعد هذه المواقع مستقبلية للمركبات الداخلة على الأنزيم سواء كانت مركبات منشطة أو مثبطة. (13)

Calculation of Bonding Energy

3-1- حساب طاقة الارتباط

تعد عملية التحلل الحيوي للمركبات الهيدروكربونية متعددة الحلقة من العمليات المهمة التي تعمل على تخلص البيئة منها والتي تعد ملوثات بيئية خطيرة لكونها مواد سامة وتعد عملية التحلل الأنزيمي احدى الطرائق التي يتم من خلالها التخلص من هذا النوع من المركبات.

في هذه الدراسة تم حساب طاقة الارتباط (الطاقة الحرة) لأحد عشر مركباً من المركبات الهيدروكربونية متعددة الحلقات مع الانزيم 3HGI الذي يعد أحد الأنزيمات المحللة لهذا النوع من المركبات والحصول على نتائج لقيم طاقة الارتباط تتوافق نوعاً ما مع قيم ثابته سرعة التحلل الحيوي لعدد من المركبات المدروسة. الجدول رقم (3-1) يبين قيم ثابته السرعة وطاقة الارتباط ومعامل الجذر التربيعي للانحراف والأحماض الأمينية المحيطة بالمركب ويلاحظ من الجدول إن قيمة طاقة الارتباط تتراوح بين (-5.051 Kcal/mol – -7.12 Kcal/mol) في حين ان قيم RMSD تتراوح بين ($1.12 - 1.71A^\circ$) التي من خلالها اثبتت دقة النتائج لأن هذه القيم يفضل إن تكون أقل من ($2A^\circ$) استناداً الى دراسات سابقة(20).

تبين من خلال هذه الدراسة بأن طاقة الارتباط تتناسب عكسياً مع ثابته سرعة التحلل الحيوي وبمعامل ارتباط (0.951) إذ إنه بزيادة طاقة الارتباط مع الأنزيم تقل سرعة التحلل الحيوي ويعود السبب في ذلك الى زيادة الوزن الجزيئي للمركبات (زيادة عدد الحلقات الاروماتية المكونة للمركب) إضافة إلى اختلاف الأحماض الأمينية المحيطة بالمركب والمساعدة على تحلل هذه المركبات.

إن اعلى قيمة لثابته سرعة التحلل الحيوي تمثلت بمركب البنزين (احادي الحلقة) يقابها أقل قيمة لطاقة الارتباط (-5.051 Kcal/mol) في حين إن أقل قيمة لثابته التحلل للمركب رقم (10) يقابلها قيمة طاقة ارتباط مساوية ل (-7.11 Kcal/mol) وهذه القيمة مقارنة لكل من المركب رقم (5) الذي اعطى اعلى قيمة الطاقة الارتباط (-7.12 Kcal/mol) ومركب رقم (11) (-7.09 Kcal/mol). في حين أعطت بقية المركبات (9 – 2) عدا مركب رقم (5) قيمة ل ΔG° تتراوح بين (-6.28 Kcal/mol) – (-6.8 Kcal/mol).

من الملاحظ إن قيمة طاقة الارتباط كلما قلت قيمتها تزداد استقرارية المعقد الناتج من ارتباط المركب بالأنزيم وعليه تكون المركبات ذات الالوزان الجزيئية العالية ذات سرعة تحلل واطئة وتأثير سمي أكبر على الجسم نتيجة لكون ارتباطها اقوى مسببة الانقسام العشوائي للخلية المسبب لأمراض السرطان نتيجة لاختلال عمل الأنزيم والمركبات الناتجة عن عملية التحلل.

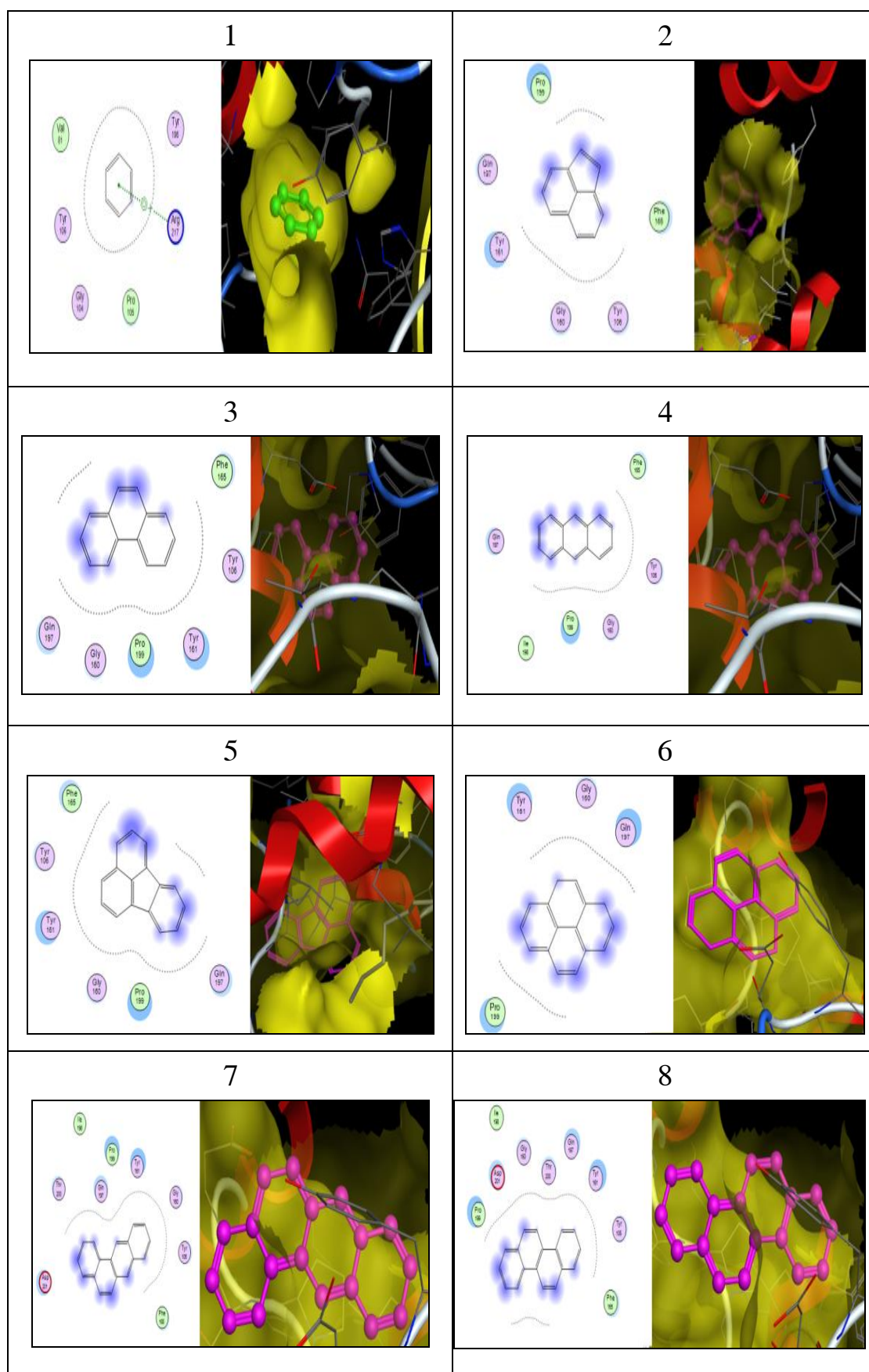
الجدول (3-1): قيم ثابته سرعة التحلل الحيوي وطاقة الارتباط ومعامل الجذر التربيعي للانحراف RMSD والاحماض الامينية المحيطة بالمركبات

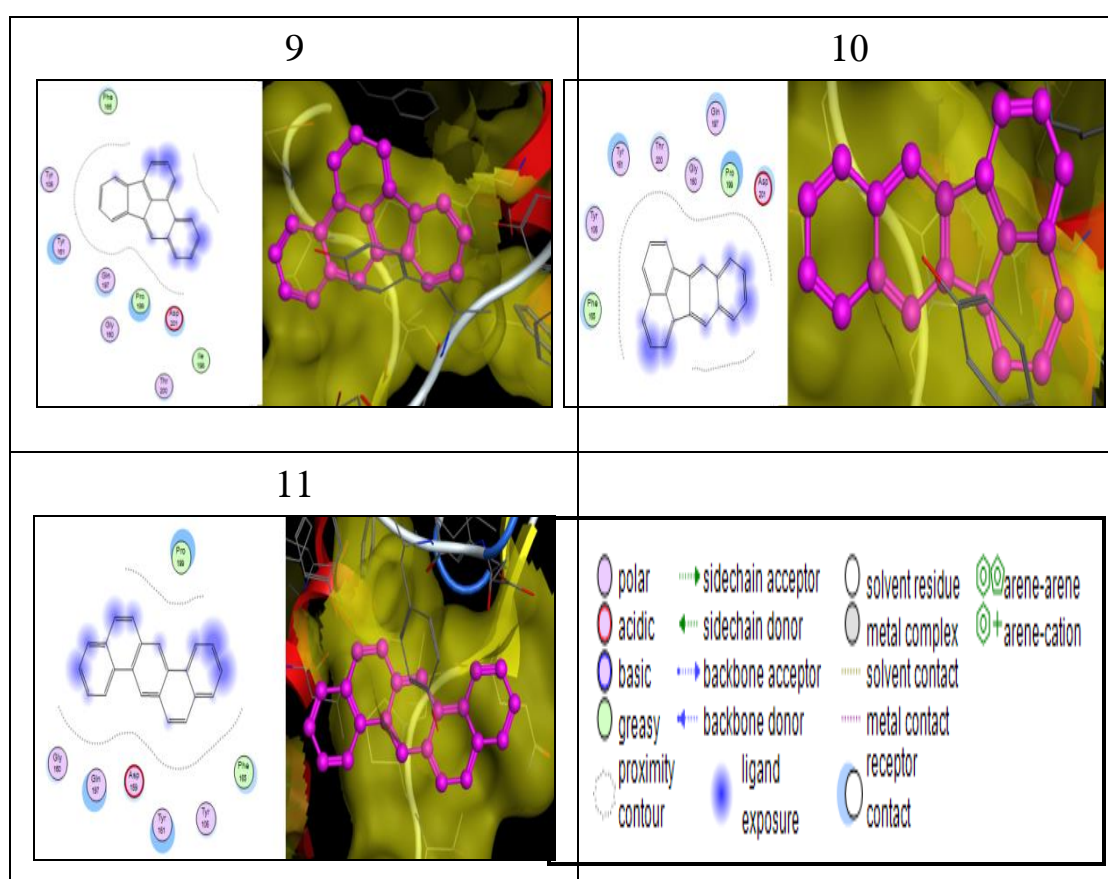
Comp. No.	k_b (day ⁻¹)	ΔG° Kcal/mol	RMSD	Amino acid
1	0.1	- 5.051	1.12	Arg(217), Val(81), Pro(105), Tyr(196), Tyr(106), Gly(104)
2	0.02	- 6.32	1.34	Phe(165), Pro(199), Gln(197), Tyr(161), Gly(160), Tyr(106)
3	0.0447	- 6.28	1.25	Pro(199), Phe(165), Gln(197), Gly(160), Tyr(161), Tyr(106)
4	0.0052	- 6.66	1.63	Pro(199), Phe(165), Gln(197), Gly(160), Tyr(106), Ile(198)
5	0.0018	- 7.12	1.41	Pro(199), Phe(165), Tyr(161), Tyr(106), Gly(160), Gln(197)
6	0.0027	- 6.68	1.72	Pro(199), Tyr(161), Gln(197), Gly(106)
7	0.0026	- 6.71	1.68	Asp(201), Thr(200), Phe(155), Pro(199), Ile(198), Gln(197), Tyr(161), Tyr(106), Gly(160)
8	0.0019	- 6.8	1.34	Asp(201), Phe(155), Pro(199), Ile(198), Gly(180), Tyr(200), Gln(197), Tyr(161), Tyr(106)
9	0.0024	- 6.77	1.64	Asp(201), Phe(155), Pro(199), Tyr(106), Tyr(161), Gln(197), Gly(160), Tyr(200)
10	0.0005	- 7.11	1.28	Asp(201), Pro(199), Phe(155), Tyr(106), Tyr(161), Tyr(200), Gln(197), Gly(160)
11	0.0019	- 7.09	1.53	Asp(201), Pro(199), Phe(155), Gly(160), Gln(197), Tyr(161), Tyr(106)

ويلاحظ من الجدول أيضاً إن الأحماض الأمينية التي تحيط بالمركب عادة ما ترتبط به بأواصر هيدروجينية أو تداخلات هيدروفوبية من نوع $\pi - \pi$ (23).

بعد اجراء عملية (Docking) تم في النهاية الحصول على الشكل ثلاثي الابعاد لارتباط المركبات مع الأنزيم بهيئتها الأكثر استقراراً وكذلك الحصول على اشكال توزيع السحابة الالكترونية على المركبات والأحماض الأمينية المحيطة بها والتي تأخذ مواقع حول جزيئة المركب المدروس استناداً إلى صفاتها كأحماض أمينية حامضية، قاعدية، هيدروفوبية (قطبية أو غير قطبية) وكما موضح في الاشكال المدرجة في الجدول (2-3).

الجدول (2-3): مواقع ارتباط المركبات الاروماتية متعددة الحلقات والأحماض الأمينية المحيطة بها في سلسلة الأنزيم





المصادر

- 1) Langston J.W., O'Hara S., Pope D.N., Davey M., Shortridge E., Imaumura M., Harino H.A., Kim H.C. and Vane, "Bioaccumulation surveillance in Milford Haven waterway", Environmental Monitoring and Assessment. 184(1): 289-300 ISSN 0167-6369 (2011).
Doi: 10.1007/s 10661-011-. 1968-z.
- 2) Dipple A., "Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Carcinogenesis". Polycyclic Hydrocarbon and Carcinogenesis. ACS Symposium series. 283. American Chemical ISBN. 0-8412-0924-3.17-1pp society (1985).
- 3) Hassouny Jadoua Abdallah, Desertification, Degradation of the ecosystem, Dar Degla Publishing & Distribution, Jordan, 1fr ed., PP86, (2010).
- 4) Kingdom of Saudi Arabia, Ministry of Education Imam Mohammed bin Saud Islamic University, Standing Committee for the Prevention of Radiation and Environmental Pollution.
- 5) Tarek Younes Ahmed and Louay Abd Ali Hilali, Biochemistry, University of Mosul, Ibn Al-Ather Publishing House, (2010).
- 6) Iwabuchi T. and Harayama S., "Biochemical and genetic characterization of carboxybenzaldehyde dehydrogenase, an enzyme involved in phenanthrene degradation by Nocardioides sp". Strain KP7. J. Bact. 179: 6488 – 6494 (1997).

- 7) Alexander M., "Biodegradation and Bioremediation", Academic Press, Inc., San Diego, CA(1999).
- 8) Kwon SH., Kim JH, Cho D., "An analysis method for degradation kinetics of lowly concentrated PAH solutions under UV light and ultrasonication". Journal of Industrial and Engineering Chemistry. ;15(2):157-62(2009).
- 9) Yang Y., Shu L., Wang X., Xing B., Tao S., "Effects of composition and domain arrangement of biopolymer components of soil organic matter on the bioavailability of phenanthrene". Environmental Science and Technology. 2010;44(9):3339-44(2010).
- 10) Tayssir Kadri, "Tarek Rouissi Research center for Eco-Enviromental sciences", Chinese Academy of sciences. Vol. 2017 page 52-74, (2016).
- 11) Nilanjana D., Preethy C., "Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: An overview. Biotechnology Research International". (2010), (2011).
- 12) Henkel M., Müller MM., Kügler JH., Lovaglio RB., Contiero J., Syldatk C. et al., "Rhamnolipids as biosurfactants from renewable resources: Concepts for next-generation rhamnolipid production". Process Biochemistry. (2012).
- 13) TIP Rev. Esp. Cienc. Quin. Biol. Vol. 21, supl. 1 (2018).
- 14) Rebert E. Notar., "Pharmacokinetics and Molecular Modification Implications in drug design and evaluation", Journal of pharmaceutical sciences, Vol. 62, Issue 6, page 865-881(1973).
- 15) Puzgn T., et. al., "Recent Advances QSAR Studies 283-304 (2010).
- 16) Iopes P.E.M., Guvench O., & Mackerell A.D., "Current Status of Protein Force Fields For Molecular Dynamics Simulations". Methods in Molecular Biology, 1215, 47-71(2015) .
- 17) Monticell and Tieleman, "force fields for classical molecular dynamics methods in molecular biology", 924, 197-213(2013).
- 18) Structure-Based Drug Design Docking and Scoring, 8, 312-328(2007).
- 19) Romano Kroemer T., Sharma T., "Journal of Chemical and Pharmaceutical Research" 6(6): 873-877(2014).
- 20) Thomas funkhouser, "Review: Protein-ligand Docking Methods", Princeton university Cs 597(2005).
- 21) Waszkowycz, Clark & Gancia, Wiley Interdisciplinary Reviews; computation Molecular science 1, 12, 229-259.
- 22) Catherine A. Peters, Christopher D. Knightes and Derick G. Brown, "Long-Term Composition Dynamics of PAH-Containing NAPLs and Implications for Risk Assessment", Environ. Sci. Technol. 33, 4499-4507(1999).
- 23) Kamil kuca, Daniel Tun, Molecular 23:1103, (2018).