تحضير احد المشتقات الاستيلينية لحامض-L- الاسكوربيك ودراسة تأثيره على بعض المتغيرات البايوكيميائية في مصل الدم

فراس شوقي عبد الرزاق ، امجد عباوي صالح

قسم الكيمياء ، كلية التربية ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

الملخص

تم تحضير المشتق الاستيليني لحامض L–الاسكوربيك بواسطة حماية المجموعتين على الموقعين 6,5 بواسطة الاسيتون ليتحول المركب الى :*O*–5،6–ايزوبروبيليدين–L–حامض الاسكوربيك،ويترك مجموعتي الهيدروكسيل حرتين في الموقعين 3,2 لتدخلان تفاعل الايثرة مع بروميد البروبارجيل . بينما تم التأكد من الصيغ التركيبية لهذه المركبات باستخدام الطرق الطيفية المتاحة (FTIR، ^{1}H-NMR ،^{13}C-NMR) وقد دلت النتائج المستحصلة على صحة التركيب المقترح.تم اخذ 14 أرنبا ذات أوزان متقاربة وتم تقسيمهم الى مجموعتين .كل مجموعة متكونة من سبعة أرانب تركت المجموعة الأولى (مجموعة سيطرة) وأعطيت المجموعة الأخرى جرعة من المركب (AB) بواقع(50mg/Kg) لكل أرنب. وبعد مرور ساعتين من إعطائهم الجرعةتم سحب عينة دم من كل أرنب وفصل المصل منها وأجريت عليها دراسة بايوكيميائية وا ٍنزيمية للمتغيرات. حيث أظهرت نتائج التحليل الإحصائي ارتفاعا غير معنويا في مستوى فعالية إنزيم كرياتين كاينيز U/L(194.278±11.213) بتأثيرالمركب(AB) ،وارتفاع معنوي في فعالية كل من انزيمالفوسفاتيز القاعدي U/L (25.429±3.299)، وا ٍنزيم كلوتاميت–بايروفيت ترانس امينيز I U/L (59.686±5.319)وا ٍنزيم كلوتاميت–وكزالواستيت ترانس امينيز (48.015±3.554)U/L، بتأثيرالمركب (AB) ،وانخفاض غير معنوي في فعاليةكل من انزيم البيروكسيديز U/L (17.542±2.345)، الكولين استريز U/L (469.107±39.017) بتأثيرالمركب (AB) ، ،بينما حصل ارتفاع معنوي في تركيزكل من الكولسترول U/L(37.538±3.429) ، الالبومن g/L (42.337±2.260)، البروتين الكلي g/L (72.614±2.693)، الكلوبيولين U/L (30.287±3.41)، الكرياتنيين µmol/L (106.585±15.387) ،وارتفاع غير معنوي بتركيزثلاثي كلسرايد U/L(58.963±5.130) مقارنة مع مجموعة السيطرة. وأشارت النتائج إلى وجود ارتفاع معنوي في تركيزكل من المغنيسيوم µmol/L (23.1931.184)،تركيز النحاس µmol/L (1.686 ±0.125) ، الخارصين µmol/L (1.65±0.06) بتأثير المركب (AB) مقارنة مع مجموعة السيطرة.

فيتامين C (حامض الاسكوربيك)

ويعرف الفيتامين بشكل عام على انة المادة التي تحافض على الوضائف الايضية في الجسم ،لذلك لايتم تخليق الفيتامين في جسم الانسان ويتم الحصول علية من مصادر خارجية [1].وتصنف الفيتامينات الى الفيتامينات الذائبة في الماء والفيتامينات الذائبة في الدهون ،وفيتامين C يعتبر من الفيتامينات الذائبة في الماء[2].يسمى فيتامين C ايضآ حامض الاسكوربيك لان لدية صفة حامضية [3] . تعود الى وجود مجموعتي الهيدروكسيد الاينولية[5,4] في الموقعين3,2.وسمي حامض الاسكوربيك من قبل منضمة-IUPAC IUBوالاسم الشائع لحامض الاسكوربيك هو فيتامينCوالذي هو عباره عن بلورات صلبة تم تعينها بواسطة اشعة X-ray لعلم البلورات[6] ويعد من مضادات الأكسدة الذائبة في الماء وينكسر بسهولة بوساطة الضوء والحرارة والتعرض للقواعد والإنزيمات وخاصة عند وجود أيونات الحديد والنحاس وكذلك يتحطم بسهولة عند الخزن الطويل[7].

المشتقات الاستيلينية

تستخدم المركبات الاستيلينية بشكل واسع كدواء،وهي تكون ذات فعالية عالية ،وقليلة السمية ويكونامتصاصها بواسطة الجسم اكبر مايمكن ولنظائرها الاولفينية و مشتقاتها الكثير من الاستخدامات الطبية فمثلآ ،تستخدم كمضادات للسرطان [8، 9]،وكذلك تخفض من ضغط الدم وعلاج الكثير من الامراض[10].ومن الادوية الاستيلينية(الايثكلورفينول) ،ويعرف كذلك ،(1–كلورو–3–اثيل–1–بنتين–4–اين–3–اول) و(الايثينمات) وكذلك تعرف ب(كاربونات– 1– ايثينيل سايكلو هكسانول) وكانت تستخدم كمنوم ومهدى [3]. وجدمكماهون ونيلسنفي عام 1961 [11] مجموعة من المركبات وهي مركبات ذات فعالية الحياتية ،ودرسوا عملياتها الايضية خارج الجسم ،أذ وجدأ أن التفرعات على ذرة الكاربون المرتبطة مباشرة مع ذرة النيتروجين تقلل من فعالية المركب اتجاه التأثيرات العصبية الارادية [11].وكذلك حضر بارجلين المركب ،N–مثل -N – بنزيل امين بروبارجل أذأنة اكتشف من قبل بارجلين و يستخدم كعلاج ناجحللضغط الشرياني[12] .وهنالك دواء اخر انتج عند عام 1963،وهو(البارجلين) الذي له تأثير تثبيط للانزيمالمؤكسد (MAO) وهو ذو تأثير مثبط وله تأثير انخفاضي و يخفض ضغط الدمبدون اي تأثير جانبي على صحة المريض [3].كذلل توجدهنالك عدد من المشتقات الاستيلينية الدوائية ذات الاهمية الواسعة مثل(Selegiline) و(Clorgyline).كذلك تم تحضير المركب (5-(2,2-dimethyl-1,3-dioxolane-4-yl)-6-ethynyl-2,2-dimethyl-tetrahydrofuro[3,2-*d*][1,3]dioxol-6-ol من خلال تفاعل مزيج من (THF) الجاف وغاز الاستيلين الجاف مع المركب (5-(2,2-dimethyl-1,3-dioxolane-4-yl)-6-ethynyl-2,2-dimethylfuro[3,2-*d*][1,3]dioxalo-6(3a*H*,5*H*,6a*H*)-one حيث يبقى على المحرك (Stirrer) يبقى المزيجفي درجة حرارة الغرفة لذلك يضاف اثيل بروميد المغنسيوم على

هيئة قطرات خلال فترة زمنية خمسة ساعات ،وان نسبة ناتج التفاعل(88%)[13].

طرق العمل

الجزء العملي العضوي

ملاحظة:- تم تنقية المركب بواسطة السليكا جيل المحمولة على العمود ،وقد تم اختبار نقاوته بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة نوع المنيوم مطلي بالسيليكا جيل من شركة Fluka .

تحضير 5,6-*O*-ايزوبروبيليدي- L-حامض الاسكوربيك{AA}
preparation of 5, 6- *O* – isopropylidene –L– ascorbic acid

تم التحضير بواسطة تمرير غاز HCl الجاف على دورق يحتوي على (10 gm) من Ascorbic acid- L( )،المذاب في (m L 100) من الاسيتون الجاف (المعاد تقطيرة) ولمدةنصف ساعةمع التحريك المستمر[14].

تحضير 3,2-ثنائي-*O*-(3-بروب-1-اين)-5,6-*O* -
ايزوبروبلدين-L-حامض الاسكوربيك(AB)
Prparation of 2,3-di-*O*-(3-propy-1-ene)-5,6-*O*-isopropylidene-L-ascorbic acid (AB)

يحضر المركب(AB)بواسطة اضافة، (8gm,27.39mmol) من المركب 5,6-O-ايزوبروبلدين -L- حامض الاسكوربيك الى مزيج كاربونات البوتاسيوم (3.724gm،26.98mmol) اللامائية والاسيتون الجاف (500ml) مع التصعيد لمدة ساعة واحدة ، يضاف بروميد البروبار جيل (2.33 ml,30 mmol) في الاسيتون الجاف (10ml) على شكل قطرات الى المزيج،ويصعد المزيجفي درجة حرارة (60) درجة مئوية مع التحريك المستمر لمدة 48 ساعة،يبخر المذيب بواسطة المبخر الدوار ويتم الاستخلاص بواسطة الكلوروفورموالماء المقطر (3×100mL) ،ثم يؤخذ الطبقة العضوية وتجفف بواسطة MgSO4 اللامائي ،يرشح المحلول ثم يبخر المذيب بواسطة المبخر الدوار Rotary evaporatorللحصول على الناتج النهائي (3,2-ثنائي-O-(3-بروبي-1-اين)-6,5-ايزوبروبلدين-L-حامض الاسكوربيك). وزن ونسبة المنتوج(7gm,87%) اعطى ناتج التفاعل تغير في قيمة Rf باستخدام كروموتوغرافيا الصفيحة الرقيقة TLC Rf (0.46) في المزيج:(ثنائي اثيل ايثر: بنزين) (4:1); تم تشخيص المركب بالطرق الطيفية المتاحة (1H-NMR , 13C-NMR) , FTIR.

الجزء العملي الحياتي

تم اخذ في الدراسة مجموعتينمن الارانب المنزلية كل مجموعة مكونة من سبعة ارانب متقاربة في العمر (الوزن≤2 kg)حيث تركت لمدة اسبوع في الاقفاص لتستقر، وطبق عليها نفس النظام الغذائي خلال هذه الفترة ،ثم تركت بدون إطعام لمدة (24) ساعة، وأعطيت المجموعة الاولى جرعة مقدارها (50 mg\kg) من المركب المحضرة (AB) لكل أرنب عن طريق الفم بعد وتركت المجموعة الثانية كمجموعة سيطرة بدون جرعة الجدول(2-5) يوضح توزيع المجاميع المقسمة .

جدول (2-5) يوضح تقسيم مجاميع حيوانات التجربة.

GROUP (A)	**عينة السيطرة والمكونة من سبعة أرانب (لم تعط جرعة)**
Group (B)	**عينة من سبعة أرانب أعطيت المركب (AB) فقط.**

تم سحب (5 mL) من الدم بمحقنة ذات استخدام واحد فقط (Disposable syringe) من القلب ،ثم وضع الدم في أنابيب بلاستيكية نظيفة ومعقمة وتركت في درجة حرارة الغرفة لحين تخثر الدم ثم فصل المصل باستخدام جهاز الطرد المركزي(4000 r.p.m) لمدة (15 دقيقة) لضمان الحصول على قدر كاف من المصل الخالي من أثار كريات الدم الحمر ، بعد ذلك تمسحب مصل الدم (الراشح) باستخدام ماصة دقيقة (Micro pipette) ، وحفظت في حالة التجميد عند درجة حرارة(°20C-) لحين إجراء الفحوصات الإنزيمية والكيموحيوية.

تقدير المتغيرات الكيموحيوية في مصل الدم Estimation of biochemical parameters in serum

تقدير فعالية انزيم كولين استريز(Che) فيمصل الدم Estimation ofcholinesterase(Che) activity in serum

تم تقديرفعالية انزيم (Che) باستخدام عدت العمل (kit) المصنعة من شركة (Diamand) المصرية .

تقدير فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي(ALP) في مصل الدام
Estimation of alkaline phosphatase (ALP) enzyme activity in serum

تم تقديرفعالية انزيم(ALP) باستخدام عدت العمل (kit) المصنعة من شركة (Biomerieux) الفرنسية.

تقدير مستوى فعالية انزيم كلوتاميت-جايروفيت ترانس امينيز في مصل الدم
Estimation of glutamate pyruvate transaminase (GPT) enzme activity in serum

تم تقدير فعالية انزيم(GPT) باستخدام عدت العمل (kit) المصنعة من شركة (Spectrum) الالمانية .

تقدير مستوى فعالية انزيم كلوتاميت-اوكزالواسيتيت ترانس امينيز في مصل الدم
Estimation of glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) enzymeactivity in serum

تم تقدير فعالية انزيم(GPT) باستخدام عدت العمل (kit) المصنعة من شركة (Spectrum) الالمانية .

تقدير مستوى فعالية انزيم البيروكسيديز في مصل الدم
Estimation of peroxidase enzyme activityin serum

تقدير مستوى فعالية انزيم كرياتين كاينيز(MB)في مصل الدم
Estimation of creatinkinase (MB) enzyme activity in serum

تم تقدير فعالية انزيم(CK) باستخدام عدت العمل (kit) المصنعة من شركة (Human) الالمانية .

تقدير مستوى الكرياتينين في مصل الدم Estimation of creatinine level in serum

تم تقدير مستوى تركيز الكرياتنينباستخدام عدت العمل (kit) المصنعة من شركة (biolabo)الفرنسية.

تقدير مستوى الألبومين في مصل الدم Estimation of albumin level in serum

تم تقدير مستوى تركيز الالبومين باستخدام عدت العمل (kit) المصنعة من شركة (biolabo)الفرنسية.

تقدير مستوى البروتين الكلي في مصل الدم Estimation of Total protein level in serum

تم تقدير مستوى تركيز البروتين الكلي باستخدام عدت العمل (kit) المصنعة من شركة (biolabo)الفرنسية.

تقدير مستوى الكلوبيولين في مصل الدم Estimation of Globulin level in serum

تقدير مستوى الكوليستيرول في مصل الدم Determination of Cholestrol level inserum

تم تقدير مستوى تركيز الكوليستيرول باستخدام عدت العمل (kit) المصنعة من شركة (biolabo)الفرنسية.

تقدير مستوى الكليسيريدات الثلاثية في مصل الدم Determination of Triglycerids level in serum

تم تقدير مستوى تركيز الكوليستيرول باستخدام عدت العمل (kit) المصنعة من شركة (biolabo)الفرنسية.

تقدير مستوى بعض العناصر في مصل الدم Determination of some Mineral levels in serum

تم تقدير بعض العناصر (الخارصين، النحاس ،المغنيسيوم) في عينة مصل لدم باستخدام تقنية طيف الامتصاص الذر ي(Atomic Absorption Spectrophotometer .AAS).

التحليل الاحصائي

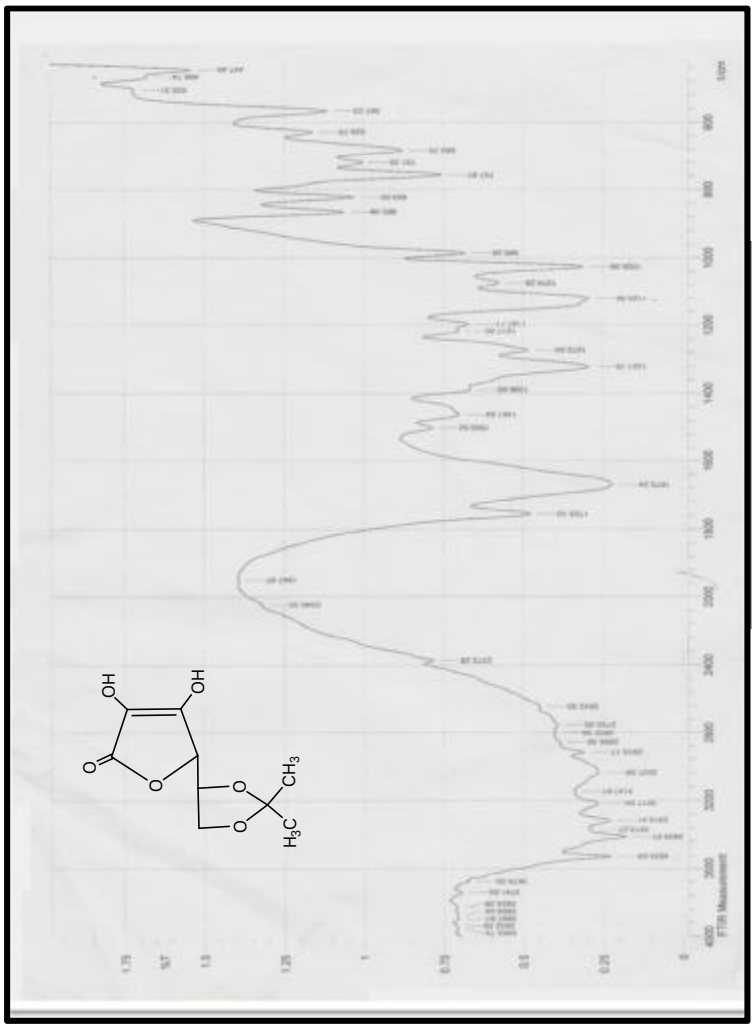
تم التحليل الاحصائي للبيانات باستخدام الحزمة الاحصائية الجاهزة SPSS16 لتحديد المعدل (Mean) والخطأ القياسي للمعدل (Standard error of mean) والانحراف القياسي(Standard Deviation) وتم تحليل النتائج احصائيا باستخدام اختبار t (t-test) لإيجاد الفروق المعنوية بين مجاميع الدراسة وكذلك تم استخدام معامل الارتباط بيرسون (Pearson's moment correlation) لغرض تحديد وجود علاقة ارتباط مؤثرة بين المتغيرات المدروسة.

النتائج والمناقشة

الدراسة العضوية

تحضيرالمشتق 6,5-*O*-ايزوبربلدين-L-حامض الاسكوربيك (AA)

إن فيتامين C في شكلة الخماسي والذي اختير كجزيئة حاملة للبروبرجيل ، يحتوي على اربعة مجاميع هيدروكسيل وهذه المجاميع هي فعالة للدخول في كثير من التفاعلات ،حيث تعتبر مجموعة الهيدروكسيل الاوليةعلى الموقع)(6-Cاكثر فعالية من مجاميع الهيدروكسيل الاخرى ولكي توجة التفاعلات الكيميائية على الموقع (2و3) يجب علينا أولا حماية المواقعين (5،6) الهيدروكسيلية بواسطة مجاميع الكيتال والتي تمتاز بسرعة تحللها في الوسط الحامضي [15] واستقراريتهافي الوسط القاعدي . وهناك عدد من طرقالتحضير لهذا المركب والتي تستعمل عوامل مساعدة حامضية مختلفة ومتوفرة لعملية (Acetonation) لفيتامينCوهي على العموم تحتاج الى وقت والى كميات كبيرة من الكاشف ،وبهذه الطريقة تم استخدام غاز لحامض معدني مثل حامض الهيدروكلوريك كعامل مساعد ،إن المركب(AA). تم تحضيره من خلال تفاعل كمية معينة من فيتامين Cمع وفرة من الأسيتون بوجود غاز الهيدروكلوريك كعامل مساعد.تم تشخيص المركب المحضر(AA) من خلال قياس بعض الخواص الفيزيائية والنسبة المئوية للمنتوج(gm 8.0 ،80%).كانت درجة انصهار الناتج بالطريقة المحورة التي اتبعناها في هذا البحث هي222-219 °م مقارنة بالمصادر[1] 217-222°م.اعطى ناتج التفاعل قيمة Rf باستخدام الصفيحة الرقيقةTLC هي 0.69 في المذيب ايثر :ميثانول(1:4).حيثاثبتةصحة التركيب المقترح لهذا المركب من خلال ضهور الامتصاصات الاهتزازية المطية ولانحنائية في منطقة (IR cm^{-1},) وكما يلي: اهتزاز مطي عند($3520cm^{-1}$) عائد الى مجموعة (OH)الهيدروكسيليه; ضهور اهتزاز مطي من(,cm^{-1} 2856-2916) عائد الى مجموعة (C-H) الاليفاتية; ضهور اهتزاز مطي من،($2856-2916cm^{-1}$) عائد الى مجموعة (OH)الهيدروكسيليه; ضهور اهتزاز مطي عند(,$1755\ cm^{-1}$) عائد الى مجموعة (C=O)لاكتون; ضهور اهتزاز انحنائي عند،($1321^{-1}cm$) عائد الى مجموعة (C-H)الايزوبروبلدين[2].

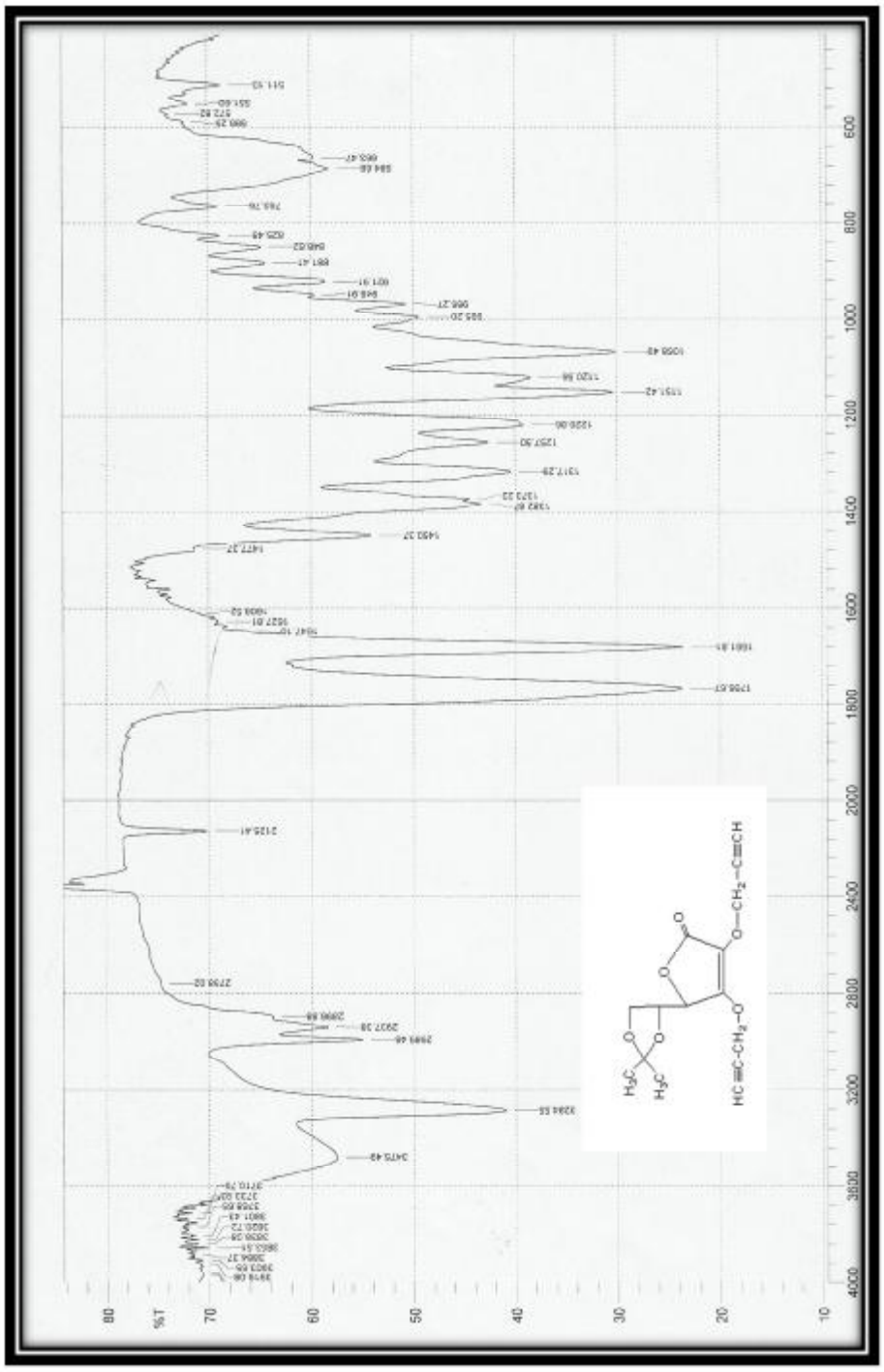


شكل رقم (3-1)يمثل مخطط تحضير AA

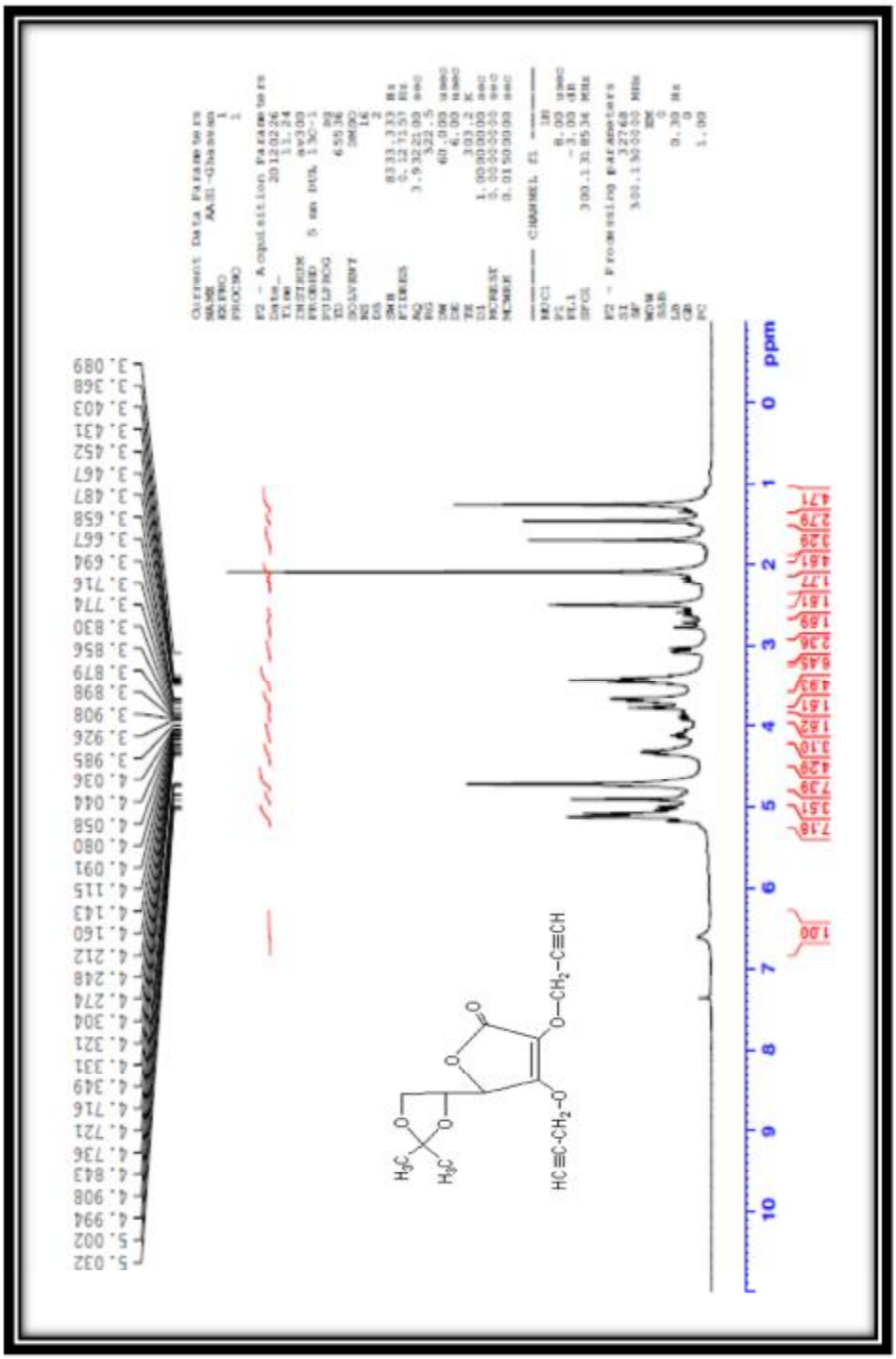
تحضير2,3-ثنائي-*O*-(3-بروبي-1-اين)-6،5-ايزوبروبلدين-L-حامض الاسكوربيك(AB)

تم تحضير المركب من خلال مفاعلة المركب (AA) مع بروميد البروبارجيل بوجود الاستون كمذيبوكاربونات البوتاسيوم وتحت درجة حرارة($60C^0$) مع التحريك المستمر لمدة 48 ساعة لينتج المركب (AB) على شكل مادة شبة صلبة(Semisolid) وبنسبة (87%). تم تشخيص المركب بالطرق الطيفية المتاحة (^{13}C-NMR , ^{1}H-NMR ,FTIR, حيث يلاحظ من طيف الأشعة تحت الحمراء ضهور اهتزاز مطي من(cm^{-1} 2897-2989) عائد الى مجموعة (C-H) الاليفاتية و اهتزاز مطيعند(cm^{-1} 2125) عائد الى مجموعة (C≡C) الاستيلينية وكذلك ضهور اهتزاز مطي عندcm^{-1} (1068-1221) عائد الى مجموعة (C-O-C) المتماثلة و الغير متماثلة. طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون(^{1}H-NMR):اضهر حزمة امتصاص عند (1.265ppm- 1.46) العائدة الى الايزوبروبلدين; وحزمة امتصاص عند(3.32ppm-3.48) القريبة من(C≡C) ; العائدة لمجموعة (C≡C-H); ضهور حزمة امتصاص عند (4.7ppm) العائدة لمجموعة (CH_2)الاليفاتية ; ضهور حزمة امتصاص عند(3.6ppm- 5.3) العائد لمجموعة(C-H) لجزيئة فيتامين C.(C_6 ,C_5 ,C_4)طيف الرنين النووي المغناطيسي للكاربون13 (^{13}C-NMR):ضهرت حزمة امتصاص عند(122 ppm) العائد الى (3C) الالفاتية ; ضهور حزمة امتصاص عند (157 ppm)العائدة لمجموعة(C_1)الكاربونيل ضهور حزمة امتصاص عند (76ppm) عائدة ل(≡C-H) ; ضهور حزمة امتصاص عند (79 ppm)العائدة لمجموعة ($C\equiv C-CH_2$); ضهور حزمة امتصاص عند(26ppm- 29)العائدة لمجموعة (C_4)الايزوبروب; ضهور حزمة امتصاص عند(59ppm)العائدة لمجموعة .($\equiv C-CH_2$)

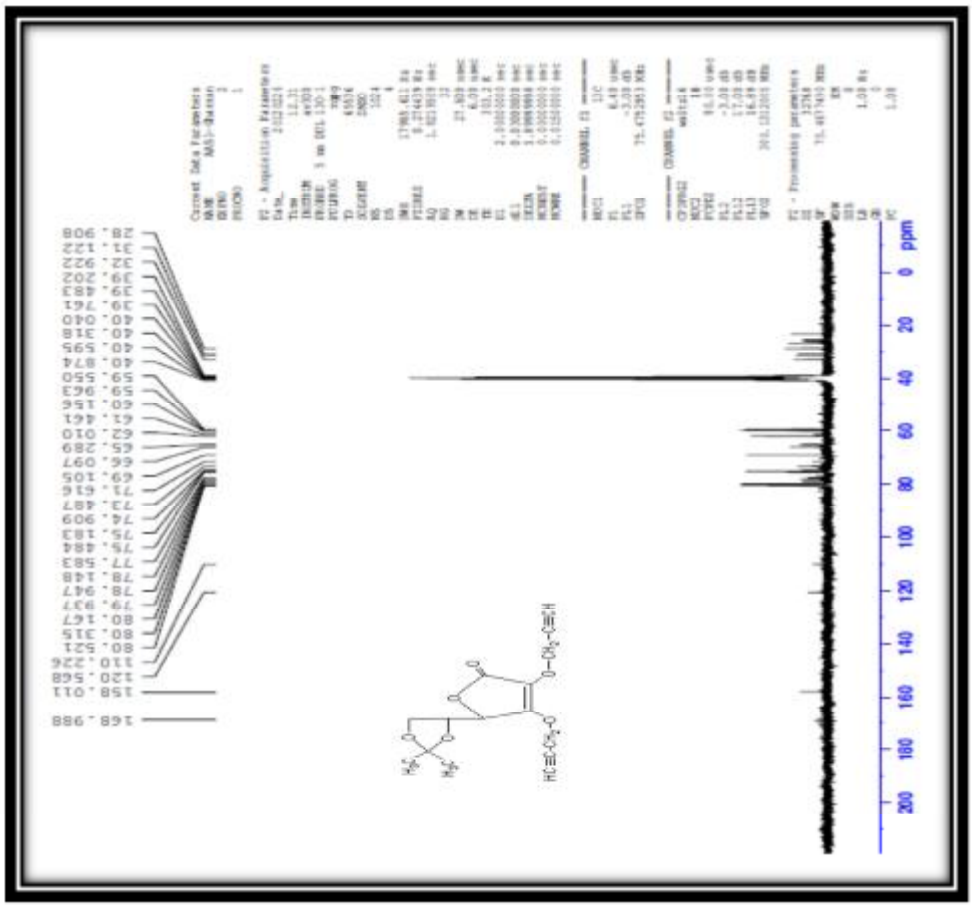
إن وجـود إشـارة رنينيـة عنـد المنطقـة (3.32 ppm) والخاصـة بامتصاص بروتون الاصرة الاستلينية يدعم تفسير طيف الأشعة تحت الحمـراء ويثبـت الصـيغة المقترحـة باسـتخدام طيـف ^{13}C-NMR ان وجود اشارة رنينية عند المنطقة (79 ppm) والخاص بامتصاص ($C\equiv C-CH_2$) يدعم التفسير و إثبات الصيغة التركيبية.



شكل رقم (3–2)يمثل مخطط تحضير AB



الشكل رقم (3 –3) يبين طيف (^{1}H-NMR) للمركب (AB)



الشكل رقم (3 –5) يبين طيف (^{13}C-)

مقارنة بعض المتغيرات الكيموحيوية

مقارنة المتغيرات الكيموحيوية (فعالية إنزيم GOT، فعالية إنزيم GPT ، فعالية إنزيم ALP, فعالية انزيم الكولين استريز وفعالية إنزيم البيروكسيديز)

تم قياس تأثير المركب المحضر (AB) في فعالية الانزيمات التاليةحيث يوضح الجدول (3–1) مستوى فعالية الانزيماتللمركب المحضر ومجموعة السيطرة ، و يبين الجدول المعدل والانحراف القياسي والخطأ القياسي للمعدل ، اختبار(t) ومستوى المعنوية ومقدار الثقة (اعلى واوطى قيمة).

الجدول (3–1) تأثير المركب المحضر في فعالية الانزيمات

	Group	mean ± SD	t-test	P-Value
GPT U/L	A	48.979±4.0348	5.562	0.001
	AB	59.686±5.319		
GOT U/L	A	19.082±2.806	3.327	0.0001
	AB	48.051±3.554		
ALP U/L	A	14.924±1.152	1.163	0.0007
	AB	25.429±3.299		
cholinesterase(Che) U/L	A	504.381±57.467	1.510	0.182
	AB	469.107±39.017		
CK U/L	A	183.741±10.293	1.027	0.344
	AB	194.278±11.213		
Peroxidase U/L	A	19.388±388	1.289	0.245
	AB	17.542±2.345		

يلاحظ من الجدول (3–1) اعلاه ارتفاع معنوي ملحوظآ في فعالية انزيم GPT عند مستوى (0.001) بتأثير المركب (AB) حيث بلغت الفعالية U/L(59.686±5.319) مقارنة مع مجموعة السيطرة(A) U/L(48.979±1.524)، ويعطي مقدار أنزيمات الترانس امينيز مؤشرا واضحا لفعالية المركب حيث إن الارتفاع الذي ظهر عندنا في قيمة هذا الإنزيم بعد اخذ جرعة المركب قد يكوندليل على تضرر الأنسجة وخلايا الكبد مما يؤدي الى الى زيادة افراز هذا الانزيم في الاوعية الدموية [16].وهذا الارتفاع في فعالية الانزيم بتأثير المركب(AB)مقارنتآ مع مجموعة السيطرة هو بحدود المعنوية (P<0.05). وهذا يتفق مع ماشارة الية(Manal A. Hamed)[17] حيث انة تناول فيتامينC يسبب زيادة معنوية في فعالية الانزيم .

ويلاحظ من الجدول (3–1) اعلاه ارتفاع معنوي ملحوظآ في فعالية انزيم GOT عند مستوى عالي من المعنوية (0.0001) بتأثير المركب (AB) حيث بلغت الفعالية U/L(48.015±3.554) مقارنة مع مجموعة السيطرة U/L(19.082±2. 806)، ويعطي مقدار أنزيمات اكزولواستيت ترانس امينيز مؤشرا واضحا لفعالية المركب حيث إن الارتفاع الذي ظهر عندنا في قيمة هذه الإنزيم بعد اخذ جرعة المركب قد يكون دليل على تضرر الأنسجة وخلايا الكبد مما يؤدي الى زيادة افراز هذا الانزيم في الاوعية الدموية [16] . ترتفع فعالية الأنزيم في أمراض الكبد مثل التهاب الكبد الفيروسي ، وتزداد نسبة هذا الأنزيم في بعض الحالات إلى 100 مرة عن الحد الطبيعي [18]، إذ لوحظ زيادة في فعالية إنزيم (GOT) في ظروف غير قلبية لذلك اقترح عدم اعتماد الأطباء في غرفة الطوارئ على قيم إنزيم (GOT) في تحديد علاقته بأمراض القلب لان خصوصية هذا الأنزيم قليلة (Low specifity) [19] ،القلبية الحادة وهذا يعد تشخيصاً إنزيميا لمرض احتشاء العضلة القلبية [20]، وهذا يتفق مع ماشارت الية Manal . A. Hamed) [17] اذأن تناول فيتامينC يسبب زيادة معنوية في فعالية الانزيم .

يلاحظ من الجدول (3–1)ارتفاعا عالي المعنوية في فعالية الانزيم(ALP) بتاثير (AB) وعند مستوى احتمال(0.0007) اذ بلغت فعالية الانزيم U/L (25.429±3.299) ، مقارنة مع مجموعة السيطرة U/L(14.924±1.152) أن ارتفاع في مستوى فعالية انزيمات الكبد نتيجةلاعطاء المركب وقد يعزى السبب في ذلك الى تضرر الغشاء الخلوي للخلايا الكبدية مما يؤدي الى اطلاق انزيمات الكبد في الاوعية الدموية وبالتالي تؤدي الى ارتفاع فعالية الانزيم في المصل لكون ان انزيم الفوسفاتيز القاعدي احد انزيمات الكبد [16] . وهذا الارتفاع في فعالية الانزيم بتأثير المركب(AB)مقارنتآ مع مجموعة السيطرة بحدود المعنوية (P<0.05)وقد يعزى سبب زيادة (ALP) وجوده بتراكيز عالية داخل الخلايا ، وفي حالة المصابين بالأورام اوالمتناولين مركبات معينة ، تحدث تغيرات في نفوذية أغشية الخلايا ، مما يؤدي إلى تحرير الإنزيم ونفوذه إلى جهاز الدوران[18] وهذا يتفق مع ماشارت اليه(Manal A. Hamed)[17] اذ أن تناول الاشحاصفيتامينC يسبب زيادة معنوية في فعالية الانزيم .

يلاحظ من الجدول (3–4) اعلاه انخفاض غير معنوي في فعالية أنزيم الكولين استريز بتأثير المركب (AB) وعند مستوى احتمال (469.107 ±39.017) مقارنة مع مجموعة السيطرةU/L(504. 381±57.467) اذ بلغت فعالية انزيم الكولين استريز بتأثير المركب (AB)U/L(469.107±39.017). ويوجد هناك نوعان من المواد الاساس التي يهاجمها كولين استيريز. النوع الاول هو succinylcholine :حيث تكون الفترة الزمنية لنشاط هذه المادة قصيرة جدا مقارنة مع المواد الاخرى في الجهاز العصبي والذي يتكون من مجموعة وظيفية لاستر بسيط ولذلك فهو يتحلل بسرعة بواسطة الانزيم Butyrlcholinesterase او يسمى Pesudocholinesterase الموجود في البلازما او المصل [21]. النوع الثاني من المواد الاساس هو acetylcholine : ان الاسيتايل كولين غير مستقر وسريع الفعالية حيث يتحلل بواسطة acetylcholinesterase اسيتايل كولين استيريز وهو انزيم ذو فعالية عالية في تحلل الاصرة الاسترية الموجودة في المادة الاساس محولاالمادة الاساس الى حامض الخليك و كولين ، ،وان فعاليته العالية والقصيرة جدا تجعله لايمثل عاملا علاجيا قويا او اهمية في القياسات السريرية المرضيه[22]. وقد وجد ان هذا الانزيم يحتوي على موقعين الاول الموقع الفعال Active site والثاني الموقع التنظيمي او الالوستيري Allosteric site ، إن هذه المعلومات يستفاد منها في الصناعة الصيدلانية وذلك بدراسةمثبطات الانزيم لتصميم دواء مفيد من الناحية الطبية وباقل اثار جانبيةسر يريه [23].ومركبنا يحتوي هيدروجين حامضية فيالطرف الاستيليني لذلك يسبب تثبيط للانزيم ولكنة غير معنوي قد يكون بسب قلة الجرعة المعطاة للأرانب .

يلاحظ من الجدول (3–1) انخفاض طفيف غير معنوي (P>0.05) في مستوى فعالية الانزيم بتأثير (AB) مقارنةبمجموعة السيطرةU/L (388±19.388) اذ بلغة فعالية البيروكسيديز بتأثير المركبU/L (17.542±2.345).يعد البيروكسيديز احد أهم العوامل الدفاعية للكلوبيولين المناعي ،بما انه انزيم بيروكسديز من مضادات الأكسدة لذلك بإمكانه أن يختزل ذرة الهيدروجين الطرفية للمركب (AB) حيث ان هذا الاختزال يودي التثبيط الانزيم مما يقلل من فعالية انزيم البيروكسديز، وهذا يتفق مع نتائج التي تم الحصول عليها.

مقارنة المتغيرات الكيموحيوية (الكرياتنين، االألبومين ، البروتين الكلي ، الكلوبيولين،الكولسترول،وثلاثي كلسرايد)

تم قياس تأثير المركب المحضر (AB) في فعالية الانزيمات التاليةحيث يوضح الجدول (3–1) مستوى فعالية الانزيماتللمركب المحضر ومجموعة السيطرة ، و يبين الجدول المعدل والانحراف القياسي والخطأ القياسي للمعدل ، اختبار(t) ومستوى المعنوية ومقدار الثقة (اعلى واوطى قيمة).

الجدول (3–2) تأثير المركب المحضر في فعالية المتغيرات

	Group	mean±SD	t-test	P-Value
Creatinine µmol/L	A	93.185±8.003	2.934	0.026
	AB	106.585±15.387		
Albumin g/L	A	39.254±0.894	3.330	0.016
	AB	42.337±2.260		
Total protein g/L	A	60.835±4.898	3.894	0.0005
	AB	72.614±2.693		
Globulin U/L	A	23.070±2.610	3.628	0.011
	AB	30.287±3.41		
Cholestrol U/L	A	25.037±3.429	0.321	0.0007
	AB	37.538±3.512		
Triglycerids U/L	A	54.648±3.884	0.875	0.415
	AB	58.963±5.130		

يلاحظ من الجدول (3–2) إلى وجود ارتفاع معنوي عالي وعند مستوى الاحتمالية (0.0007) اذ بلغت فعالية المتغير U/L(37.538±3.429)في مستوى تركيز الكوليستيرول في مصل دم المجموعة التي اعطية المركب (AB) مقارنة مع تركيز الكوليستيرول في مصل دم مجموعة السيطرةU/L (25.037±3.512). اشارت اليه بعض البحوث من ان فيتامين C يسرع من تحول الكولسترول الى احماض الصفراء التي تطرح مع البراز وهذا يتفق , حيث ان زيادة فيتامين Cيعمل على تقليل الكرب ألتأكسدي للكولسترول .

يلاحظ من الجدول (3–2) إلى وجود ارتفاعغير معنوي وعند مستوى الاحتماليـــة (0.415) اذ بلغـــت فعاليـــة المتغيـــر U/L(58.963±5.130)فـي مستوى تركيـز الكلسـيريدات الثلاثيـة فـي مصل دم المجموعة التي أعطية المركب (AB) مقارنة مع تركيز في مصل دم مجموعة السيطرةU/L (54.648±3.884).

حيث يوضح الجدول (3–2) اعلاه ارتفاعا معنوي في تركيز الالبومين بتأثير المركب (AB)مقارنة مع مجموعة السيطرة الى حدود المعنوية الاحصائية(P<0.05) اذ بلغ تركيز الالبومين بتأثير هذا المركبg/L (42.337±2.260) مقارنة مع مجموعة السيطرةg/L(39.254±2.26)وقد يعود السبب في زيادة تركيز الألبومين في الدم إلى النقص الغذائي أو نتيجة دوره في حجب الجذور الحرة، إذ يعد من مضادات الأكسدة المهمة في الدم والتي تعمل على حجب الجذور الحرة من خلال الارتباط بالأحماض الدهنية الحرة ومركبات الهايبوكلوريد (Hypochloride, HOCl) النشطة والبيليروبين. ونتيجة لقدرة الألبومين على كسح الجذور الحرة فقد يؤدي هذا إلى زيادة كميته في الدم [24]. وهذا يتفق مع مااشارت اليه . (Manal A. Hamed)[17] إذ إن تناول فيتامينC يسبب زيادة معنوية في تركيز الالبومين .

يلاحظ من الجدول(3–2) كما لوحظ ارتفاع عالي المعنوي في تركيز البروتين الكلي وعند مستوى احتمال (0.0005) بتأثير كل من (AB) على التوالي اذ بلغ التركيز فيها g/L(72.614±2.693) مقارنة مع مجموعة السيطرة g/L(60.228±4.898). وفي حالات التقيؤ أو تناول مركبات معينة او الإسهال الشديد أو نقص تناول الماء تزداد كمية البروتين (Hyperproteinemia) عن المعدل الطبيعي [24] ،كما انه في حالة سوء التغذية (Malnutrition) والحروق(Burns) والنزف الدموي (Extensive bleeding)تقل كمية البروتين (Hypoproteinemia) عن المعدل الطبيعي [25]،إن العديد من البروتينات تستعمل طبيا وذلك في التعويض عن الخسارة في الاشكال الاخرى من البروتينات فمثلا يصنع الهورمونات كالأنسولين من البروتينات لسد النقص الحاصل به عند الإصابة بمرض معين،ومن خصائص البروتينات كجزيئات كبيرة يمكن أن تتغير بسهولةبظاهرة تدعى مسخ البروتين Denaturation الذي يؤدي إلى خسارة نشاطها الحيوي [25] . وهذا يتفق مع مااشارت اليه (Manal A. Hamed.)[17] إذ إن تناول فيتامينC يسبب زيادة معنوية في تركيز البروتين الكلي.

يلاحظ من الجدول(3–2) ارتفاع معنوي في فعالية الكلوبيولين بتأثير (AB) وكان الارتفاع عند مستويات الاحتمال(0.015) اذ بلغت فعالية U/L(30.287±3.41))مقارنة بمستواه في مجموعة السيطرة U/L(23.070 ±2.610)ان الكلوبيولين يعد من الاجسام المضادة ويقوم بوضائف دفاعية [27] . وهذا يتفق مع مااشارت اليه Manal . (A. Hamed)[17] إذ إن تناول فيتامينC يسبب زيادة معنوية في تركيز الكلوبيولين.يلاحظ من الجدول (3–2) أعلاه ارتفاع معنوي في تركيز الكرياتينينبتأثير المركب(AB) مقارنةبمجموعة السيطرة وعند مستوى احتمال (0.026) اذ بلغ التركيز عندها µmol/L(387 .106.585±15) مقارنة مع مجموعة السيطرة µmol/L(93.185±8.003). وهذا يتفق مع مااشارت اليه Manal (A. Hamed) [17] الذي بين انة تناول فيتامينC يسبب زيادة معنوية في فعالية الكرياتينين.

مقارنة مستوى بعض العناصر (المغنيسيوم ، الخارصين والنحاس)

تم قياس تأثير المركب المحضر (AB) في فعالية الانزيمات التاليةحيث يوضح الجدول (3–1) مستوى فعالية الانزيماتللمركب المحضر ومجموعة السيطرة ، و يبين الجدول المعدل والانحراف القياسي والخطأ القياسي للمعدل ، اختبار(t) ومستوى المعنوية ومقدار الثقة (اعلى واوطى قيمة).

الجدول (3–3) تأثير المركب المحضر في فعالية المتغيرات

	Group	mean ± SD	t-test	P-Value
Zn µmol/L	A	1.281±0.056	0.830	0.0002
	AB	1.655±0.060		
CU µmol/L	A	1.473±0.97	3.580	0.012
	AB	1.686±0.125		
Mg µmol/L	A	0.815±21.143	4.755	0.003
	AB	1.184±23.193		

يلاحظ من الجدول (3–2) أعلاه وجود ارتفاع عالي المعنوية في تركيز الخارصين بتأثير المركب (AB) ، مقارنة بمجموعة السيطرة (1.281 ±0.056)µmol/L وعند مستوى احتمال (0.0002).اذ بلغ تركيز الخارصينبتأثير هذه المركب (1.655±0.060) µmol/L من أهم أدواره انه يعمل بوصفه مضاد للأكسدة Antioxidant إذ يعمل على حماية مجموعة الثايول الحرة (SH-) في البروتينات من الأكسدة عن طريق منع تكوين الجذور الحرة $OH^{\bullet}$ ، $O^{-}_{2}{}^{\bullet}$ التي تنتج بواسطة العناصر الانتقالية وبذلك فان زيادة تركيزهيثبط عملية بيروكسدة الدهن التي تؤدي إلى تلف المكونات الخلوية [28].

يلاحظ من الجدول (3–2) أعلاه وجود ارتفاع معنوية في تركيز النحاس بتأثير كل من المركب (AB) مقارنة بمجموعة السيطرة(1.437 ±0.97)µmol/L وعند مستوى احتمال (0.012) على التوالي .اذ بلغ تركيز النحاسبتأثير هذه المركبات µmol/L (1.686 ±0.125) .

المصادر

1. I. Kowanko,J. ***Clin. Nurs.***,(2001); 10(1): 51-57.
2. F.A.Shwki, M.Sc.Thesis , University of Baghdad , (2002).
3. R. F. Doerge ***," Wilson and Gisvold's Text Book of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry"*** Ed., J. B. LippincottCompany,London, Mexico City, New York , 10th .Ed .,Ch.3, 1998.
4. 4.Bielski, B. H. J. In *Ascorbic Acid:* Chemistry, Metabolism, and Uses; Seib, P. A.,Tolbert, B. M., Eds.; ***American Chemical Society***: Washington, D.C., (1982); 81-100.
5. . E. Smith, R. Hill, R. Lefkowitz , P. H. Handler and A.White ***"Principle of Biochemistry, Mammalian Biochemistry",*** 7th Ed., (1981);666-668.
6. J .Hvoslef , ***Acta Cryst.***, (1969); Sect., B25:2214.
7. Naidu K.A***., Nutrition Journal***, (2003); (2): 7.
8. S.Fujiki and N.Kagaku Zasshi, ***Chem.Bio.Inter.***,(1981) ; 34: 185 .
9. R. E. Macmahon***, J.Pharm.Sci***. (1966) ; 55:457 .
10. N. R. Easton et al., ***J.Med. Chem***.,(1966);9:456.
11. Re.Mcmahon and NelsonR. Easton, ***J. Med. And Pharm.Chem***., (1961) ; 4:1103.
12. A.H. Khutheir,M. Iraqi andHallastom,***Chem Bio . Inter***,(1963); 34:424.
13. k.kakinuma.Y.Iihama.I.Takagi,K.Ozawa,N.Im aamura,Y.Esumi,and M.Uramoto,Diacetone glucose architecture as a chirality template.II.Versatile synthon for the chiral deuterium labeling and synthesis**,** ***Tetrahhedron*** (1992);48:3673 .
14. L. L. Salomon**,** ***Experientia***, (1963);19(12): 6119.
15. Baker R.R.and MurrayR.K.," ***Pretty Darned Quick Biochemistry"***,BC.DeckerInc Hamilton.London , (2001) :93.
16. Udegbunam R.I, AlaetoV.C., Udegbunam S.O. and Offor G.E.,***Veterinarski Arhiv.*** ,(2008);78(6) :467-476.
17. Manal A. Hamed., ***Pol. J. Food Nutr. Sci,***(2006) ; 15/56, 2: 339–348.
18. **.**Fontes J.P., Goncalves M., and Riberio U.G**.,** ***Rev.Port***., Cardiol, (1999);18(2) :1129- 36.
19. **.**Ladue J.S., Wroblews K., and KarmenA**,** ***science*** , (1954);120: 497 .
20. **.** Dwell , Ikizier , Sannella , A Prospective Cohort Study . **Am J Kidney Dis**., (2009); 54:112-121.
21. Bioshop L.,Duben.,Vonlaufen J.L. and Fody E.P**.,** ***"Clin-Chemistry :Principles , Procedure, Correlation*** ",J.B.Lippincott company .Philadelphia ;(1985):222-418.
22. Moran L.A , Scrimgeour K.G , Horten H.R . , Raymond S.O. and Rawn J.D., ***"Biochemistry",***2ndEd,PR entice Hall;(1994).
23. H .S. Ranhotra and R Sharma**.,** ***Indian Journal of Clinical Biochemistry,***(2010); 25 (1): 51-56.
24. Wooton I., ***"Micro analysis in medical biochemistry "***,5thEd,Churchill Living stone.Edinburghand London; (1974):104-108.

27. .Kaplan L.A.,. **"Clinical Chemistry :Theory, Analysis andCorrelation "** ,The C.V., Mosby Co., 2Th .,edition, (1989); 776-793.
28. Hames B. and Hooper N. "***Biochemistry***" , 2nd ed. , Biddles , Guild Ford , V. K. , (2000) : 311-340 .
25. Dennison C., ***"A Guide to protein isolation"***, Klumer academic publishers. New York;(2002).
26. Tietz N., ***"Text book of clinical chemistry",***W.B.Saunders company Philadelphia;(1986).

Synthesis of one acetylanic derivatives for -L-Ascorbic acid and study there effect on some Biochemicalparameterson serum blood

[1] Firas Shawki Abdul-Razzak, [2] Amjad Abbawi Salih
[1, 2] Chem. Dept., College of Education, University of Tikrit, Tikrit, Iraq.

Abstract
The acetylinic derivative was prepared by protected the tow hydroxyl groups at 5,6 and leave the two Hydroxyl groups at 2 nd 3 positions free for etherification reaction with proparygl bromide . of the(AB) compound was done by (TLC) and column chromatography. while the structure of their mutual compound was confirmed by (FTIR, H^1NMR,C^{13}NMR) and the results gave good evidence for proposed structure.Fortier(14) rabbits were used in the study, They were at the wighet divided into two groups. First group (saventeent rabbit) were used as control group did not take have any dose(group A), The compound (AB) (50 mg/Kg) body weight, has been added to the second group then after After blood sample has been taken from each rabbit, centeri fugedat (X.g 4000) to optain the serum for analytical ofstudy . Statistical data analysis revealed non-significant increase in the level of creatinkinase activity (194.278±11.213) (U/L) for (group AB),and Statistical data analysis revealed significant increase in the level of Alkaline phosphatase(ALP) activity (25.429±3.299) U/L Gloutamate-pyrovate transaminase (59.686±5.319) U/L ,and Glutamate – oxaloacetate transaminase (48.015±3.554) U/L,and the study also showed non-significatann decrease in the level of cholinesterase activity (469.107±39.017) U/L ,and peroxidase (17.542±2.345) U/L. for (group AB) All parameters werer compared with the levels ofthe control group. and the Statistical data analysis revealed signification increase in the concentration of Cholestrol (37.538±3.429)mmol/L,Albumin (42.337±2.260)g/L ,total protein (72.614±2.693)g/L, globulin (30.287±3.41) g/L and the concetratiation of, creatinine ((106.585±15.387) µmol/L ,and non-signification increase in triglycerids(58.963±5.130) mmol/L for(group AB) comared to contral group. There wasalso a significant increase in the concentration of Mg (23.193±1.184) mmol/L , Cu (1.686 ±0.125) µmol/L.