Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

Bio-chemical Study on the Effect of 4-amidazoldine-4-One Compound Derived from Naproxen on the Effectiveness of Cholinesterase and Some Biochemical Parameters in Rabbit Serum

Amjed Abbawi Saleh

Department of Chemistry, College of Education for Pure Sciences,

University of Kirkuk, Kirkuk, Iraq

Abstract

In this study (4-imidazolidine-4-one) derivative of naproxen was prepared and diagnosed, while the structural formula of this compound was confirmed using the (H-NMR, FTIR,13C-NMR) spectrum. (12) Rabbits of close weights were divided into two groups, the first group is the control group which consists of (4) Rabbits and the second group is the group that was injected with the compound, which was prepared and the number of (8) Rabbits. The first group was given the control group solvent (DMSO), the second group was injected with the compound (AB) and the dose (50 mg / kg) of body weight per rabbit. After 2 hours of the dose, a blood sample was drawn from each rabbit and the plasma was separated. A biochemical and enzymatic study of the variables was carried out. The measured variables included the activity of enzymes (cholinesterase, alanine transaminase, aspartate transaminase) and serum cholesterol concentration. The study proved that the compound has significantly inhibited the cholinesterase activity and can be used in the treatment of patients with Alzheimer's disease and increase the amount of neurotransmitter acetylcholine. Inhibiting cholinesterase inhibits the breakdown of the neurotransmitter and thus will perform the stimulation of the nervous system naturally, and effectively the compound did not significantly affect the activity of the enzyme glutamate oxaloacetate transaminase, glutamate pyruvate transaminase, while the cholesterol level in the rabbit serum had a significant effect.

دراسة كيميائية حياتية حول تأثير مركب ٤-ايميدازولدين ٤-اون المشتق من النابروكسين على فعالية انزيم الكولين استريز وبعض المتغيرات الكيموحيوية في مصل دم الأرانب

امجد عباوي صالح الجبوري

Web Site: www.kujss.com Email: kirkukjoursci@yahoo.com, kirkukjoursci@gmail.com

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

قسم الكيمياء، كلية التربية للعلوم الصرفة،جامعة كركوك ، كركوك- العراق

الخلاصة

تم في هذه الدراسة تحضير وتشخيص مركب (٤-ايميدازولدين -٤-اون) (4- Imidazolidine-4-on) المشتق من النابروكسين Naproxen ، ، بينما تم التأكد من الصيغة التركيبية لهذا المركب باستخدام الطيف (H-NMR,FTIR, 13C-NMR). وتقييم فعالية الكيموحيوية في مصل دم الارانب واستخدم في هذه الدراسة (١٢) ارنبا ذات اوزان متقاربة وتم تقسيمهم الى مجموعتين المجموعة الاولى هي مجموعة السيطرة التي تتكون من (٤) ارانب والمجموعة الثانية هي المجموعة التي تم تجريعها بالمركب الذي تم تحضيرة وعددها(٨)أرانب، حيث تم تجريعهم فمويا حيث اعطيت المجموعة الأولى مجموعة السيطرة مذيب (DMSO)، وجرعت المجموعة الثانية بالمركب (AB) وبالجرعة (٥٠ملغم/كغم) من وزن الجسم لكل ارنب. وبعد مرور ساعتين من اعطائهم الجرعة تم سحب عينة دم من كل ارنب وفصل البلازما منهما واجريت عليهما دراسة بايوكيميائية وانزيمية للمتغيرات وكما ياتي، شملت المتغيرات المقاسة فعالية انزيمات (كولين استراز، الانين ترانس امينيز، اسبارتيت ترانس امينيز)، وقياس تركيز الكولسترول في مصل الدم. حيث اثبتت الدراسة ان المركب المحضر ثبّط معنويا خميرة الكولين استراز ويمكن الاستفادة من هذا الفعل في معالجة المرضى المصابين بمرض الزهايمر وزيادة كمية الناقل العصبي الاستيل كولين حيث ان تثبيط خميرة الكولين استريز يمنع تحطم الناقل العصبي الاستيل كولين وبهذا سوف تتم عملية التحفيز العصبي بشكل طبيعي وفعال، ولم يؤثر المركب المحضر معنويا على فعالية الانزيمات كلوتاميت اوكزالوإستيت ترانس ايمينيز Glutamate oxaloacetate Transaminase ، كلوتاميت بايروفيت ترانس ايمينيز Glutamate pyruvate transaminase ، بينما كان هناك تأثير معنوي على زيادة مستوى الكوليستيرول Cholesterol في مصل دم الارانب.

المقدمة Introduction

مركب (٤-ايميدازولدين -٤-اون) (4- Imidazolidine-4-on) المشتق من النابروكسين Naproxen، والذي يصنف من المركبات الحلقية غير المتجانسة وأن هذه المركبات لها اهمية بالغة سواء كانت أليفاتية او اروماتية لذلك تناول العديد من الباحثين دراسة هذه المركبات وكانت محط اهتمامهم الكبير، إذ ان العديد من المركبات الحيوية مثل (البيورينات، البيرميدينات، والاحماض النووية) تحتوي في تركيبها على حلقات غير متجانسة [١، ٢] ومعظم الفيتامينات

تتكون من حلقات غير متجانسة كما ان المضادات الحيوية تحتوي انظمة غير متجانسة وتأتي اهمية مشتقات النابروكسين من خلال ميكانيكية عمل هذه المركبات والتي لها تأثيرات على العديد من الانظمة الانزيمية داخل الجسم ومنها الفعل التسكيني والمضاد للألتهاب والخافض للحرارة لهذه المركبات من خلال عملها على تثبيط انزيم (Cyclooxygenase) [٣]، كذلك تعمل هذه المركبات على تثبيط انزيم الكولين استراز(cholinesterase) [٤]حيث تعتبر خميرة الكولين استراز من البروتينات الضخمة والمعقدة وتتألف من اربع سلاسل ببتيدية تتواجد بشكل دايمر ثنائي Two dimmers وتوجد في معظم الكائنات الحية ابتداءً من الأوالي Protozoa وأنتهاءً بالجنس البشري Human [٥] وتشمل انزيمات الكولين استراز مجموعة من الانزيمات تختلف قليلا عن بعضها، المجموعة الاولى هي الانزيمات المحللة للاستيل كولين Acetylcholine hydrolase وتسمى ايضا بالاستيل كولين استراز ورقم التصنيف لهذه المجموعة هو(E.C.3.1.1.7)[٦]، والمجموعة الثانية هي الانزيمات المحللة للاستيل كولين Acyl hydrolase acetylcholine ويسمى ايضا بيوتريل استراز Butyrylcholinestrase ورقم التصنيف لهذه المجموعة هو (EC 3.1.1.8) [٧]، هنالك معلومات قليلة عن تخليق الانزيم في الخلية حيث يقوم بعمله الفيسيولوجي. اما الدراسات التي اعتمدت النظائر المشعة فتشير الى انه يتم تخليق الانزيم في العضلات ثم ينقل الى غشاء البلازما، تعد انزيمات الكولين استراز ذات دور فسيلوجي فعال في عملية نقل الاشارات بين الوحدات العصبية المختلفة في الجهاز العصبي، وان الكثير من وظائف خمائر الكولين استراز في الدم غير معروفة الا انه يعتقد بأنها قد تقي الجسم من مثبطات الكولين استراز ويعتقد ان لها علاقة بنمو الخلية وتنظيم تكون الدم Hemopoiesis [٨]، كذلك اشارت الابحاث الى الاهمية الانزيمية لهذا الانزيم، اذا انها تعد من الانزيمات المهمة عند تحلل المخدرات في العضلات والعصابات الطبيعية الاسترية، وهنالك عدة مركبات لها القابلية على الارتباط بالموقع الفعال او في موقع اخر يحجب ارتباط مجموعة وظيفية في الموقع الفعال ممايؤدي الى فقدان فعالية الانزيم مثال لذلك مركبات الفسفور العضوية ذات تأثير تثبيطي لانزيمات الكولين استراز بنوعيها (BuchE,AchE) ومعظم هذه المركبات تستخدم كادوية ومبيدات زراعية [٩]، وبما ان المصابين بمرض الزهايمر يعانون من نقص في كمية الناقل العصبي الاستيل كولين لهذا تستخدم المركبات التي تعمل على تثبيط خميرة الكولين استراز في زيادة كمية الناقل العصبي في مواقع الاشتباك العصبي [٤]، وبالتالي قد اثبتت الدراسة بان مشتقات اميدوزالين تثبط الكولين استراز ويمكن الاستفادة من هذه الخاصية

في معالجة المرضى المصابين بمرض الزهايمر وزيادة كمية الناقل العصبي الاستيل كولين حيث ان تثبيط الكولين استريز يمنع تحطم الاستيل كولين وبهذا تتم عملية التحفيز العصبي بشكل طبيعي وفعال [١٠]، وفي انسجة الارانب تنتشر خمائر الكولين استراز في عدة مواقع حيث توجد في الانسجة القابلة للتهيج وفي مواقع الاشتباكات الكولينية Cholinergic synapses حيث تقوم بتحليل الاستيل كولين وفي الكبد والبلازما ضمن البروتينات عالية الكثافة High Density Lipoprotein(HLD) وكذلك توجد في مناطق الارتباطات العضلية الوتدية Musclotendinous وفي الارتباطات العصبية العضلية Neuromuscular junction وفي العضلات وفي مصل الدم وكريات الدم الحمر والصفيحات الدموية وفي الخلايا اللمفية نوع (تي) T-lymphocytes والبنكرياس ونهاية الصفيحة الحركية Motor end plate والالياف العصبية Neural fibers وفي جسم الخلية العصبية Neuron body ومحورها Neuron axis وفي الجهاز العصبي المركزي Central Nervous System (الحبل الشوكي والدماغ) [١١، ١٢] ويوجد عدة طرائق لقياس نشاط خميرة الكولين استراز ومن اهم هذه الطرائق طريقة إلمان [١٣] هي من الطرائق اللونية وتعتمد على تفاعل الثايوكولين Thiocholine الناتج من تحلل الاستيل ثايوكولين Acetylthiocholine مع 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) مكونا لونا اصفرا للناتج الجديد هو 5-thio-2-nitrobenzoate ويقاس اللون الناتج بطول موجي قدره ٤١٢ نانوميتر وتوجد طريقة أخرى غير لونية وهي الطريقة الكهرومترية [١٤] واساس هذه الطريقة هو تحلل الاستيل كولين الى كولين وحمض الخليك Acetic acid بواسطة خميرة الكولين استراز، ويسبب حمض الخليك انخفاض البأها pH في مزيج التفاعل Reaction mixture [١٥] يتم بناء الكولسترول في الكبد والامعاء الدقيقة، اذ انه يتواجد بشكل خاص في الانسجة العصبية [١٦]، اثبتت الدراسات الى ارتفاع الكولسترول لدى الاحياء التي تتناول المركبات الحلقية [١٧]، انزيم الاسبارتيت كان يعرف سابقا بأنزيم Glutamate oxaloacetate transferase or Transaminase الذي يرمزله بالرمز (GOT) [١٨]، هو من الانزيمات الناقلة والتي لها الرقم (٢) ضمن تصنيف الانزيمات Enzyme commission وينتمي الى مجموعة الانزيمات الناقلة لمجموعة الامين اذ يحدث تداخل الاحماض الامينية ونقل مجموعة الامين. وقياس مستوى انزيم امينو ترانسفيريز ويعرف ايضا بانزيم Glutamate pyruvate transaminase و يرمزله بالرمز(GPT) وهو من الانزيمات الناقلة التي تحمل الرقم (٢) ضمن تصنيف الانزيمات (EC). وهذا الانزيم له

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

اهمية في تشخيص اصابة الكبد اكثر من انزيم AST بوصفه عاملا واضحا لحدوث تراكمات دهون الكبد وثبتت عدة مؤشرات الاصابة بداء السكري النوع الثاني او غير المعتمد على الانسولين [١٩]، اذ يترافق انخفاض مستوى الانزيم مع الزيادة في مستويات الكولسترول الملاحظة في حالات احتقان الكبد Congested liver كذلك نلاحظ زيادة في حالات اصابة الكلى وتحطم الكبد واحتشاء العضلة القلبية [٢٠]. ولتحقيق اهداف هذه الدراسة سيتم اجراء التجارب التالية :

- تحضير مركب (4- Imidazolidine-4-one) بإشتقاقه من النابروكسين.

- تشخيص المركب المحضر بالطرق الطيفية المتاحة (FTIR, 1H-NMR, 13C-NMR).

- التقييم الحيوي للمركب المحضر وذلك من خلال:

دراسة تأثير المركب على (الكولين استراز Cholinesterase Che ، كلوتاميت اوكسالواستيت ترانز امينيز Glutamate oxaloacetate Transaminase GOT ، كلوتاميت بايروفيت ترانز امينيز Glutamate pyruvate transaminase GPT ، الكوليستيرول Cholesterol)

الكلمات المفتاحية:(المركب AB ،فعالية كولين استريز ، Che , GOT,GPT)

المواد وطرائق العمل (Materials &Methods)

الحيوانات Animals

استخدمنا في هذه الدراسة الارانب المحلية *Lepus cuniculua domestica* ذكور وأناث معدل اوزانها (≤٢كغم) غم وكانت بصحة جيدة والتي تم تجهيزها من الاسواق المحلية في كركوك وتتراوح اعمارها ما بين ٦-٨ أشهر وتم مراعاة ان تكون الاوزان متقاربة في التجربة الواحدة. وتم تربية الحيوانات لمدة ٢٠ يوم في غرفة بدرجة حرارة من ٢٧-٣٥ مْ ومستوى الرطوبة من ٢٥-٣٠ % ودورة ضوئية Photoperiod (١٢) ساعة ضوء و(١٢) ساعة ظلام

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

وتم اسكانها في اقفاص حديدية بقياس ٨٠ x ٨٠ x ٨٠ سم مخصصة لتربية الارانب تم توفيرها من كلية الطب البيطري/جامعة كركوك وتم فرش ارضية الاقفاص بنشارة الخشب وتم مراعاة تنظيف الاقفاص وتعقيمها مرتين بالاسبوع وتم اعطائها العليقة المخصصة للأرانب ووضعها في اواني خاصة تعلق على جدران القفص لمنع تلوثها بنشارة الخشب وتتكون العليقة من (حنطة ٣٤ %، شعير ٢٠% ، ذرة ٢٥% ،بروتين حيواني ١٠% ،حليب مجفف ١٠% ،ملح طعام ١%) [٢١].

الاجهزة والمواد المستخدمة

- يوديد الاستيل كولين٩٩,٩ % شركة Schuchardt ، المانيا،لاستخدامه كمادة اساس في طريقة مايكل.
- يوديد الاستيل ثايوكولين شركة Schuchardt ، المانيا، لاستخدامه كمادة اساس في طريقة إلمان.
- محلول الهيبارين الصوديوم (5000 وحدة دولية/مل) شركة Riedel de haen، المانيا.
- فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين شركة High media ، الهند.
- كلوريد الصوديوم شركة CDH، الهند.
- باربيتال الصوديوم شركة Riedel de haen ، المانيا.
- حمض الهيدروكلوريك شركة T.H.Baker، الهند.
- بيكاربونات الصوديوم شركة Fluka، السويد.
- دي تي ان بي DTNB (Dithionitrobenzoate) شركة Schuchardt، المانيا.
- عدة (Kit) المصنعة من شركة (biolabo) الفرنسية، لقياس فعالية GOT.
- عدة (Kit) المصنعة من شركة (biolabo) الفرنسية، لقياس فعالية GPT.
- عدة (Kit) المصنعة من شركة (biolabo) الفرنسية، لقياس مستوى الكوليستيرول.

الاجهزة المستخدمة

- جهاز قياس البأها pH-meter المانيا.
- حاضنة ماء Memmert شركة Novacal ، المانيا.
- جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer شركة EMC، المانيا.
- جهاز الطرد المركزي Centrifuge، LMS- CONSUOT، المانيا.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

جمع عينات المصل

تم جمع عينات الدم من الارانب وذلك عن طريق سحب ٥ مل من القلب باستخدام محقنة ذات الاستخدام الواحد فقط (Disposable syringe) ثم وضع الدم في انابيب بلاستيكية نظيفة ومعقمة وتركت في درجة حرارة الغرفة لحين تخثر الدم ثم فصل المصل باستخدام جهاز الطرد المركزي (Xg 3000) لمدة ١٥ دقيقة للحصول على المصل الخالي من آثار كريات الدم الحمر بعد ذلك سحب مصل الدم (الراشح) باستخدام ماصة دقيقة (Micro pipette) وحفظت في حالة التجميد عند درجة حرارة ($-20C^{O}$) لحين أجراء الفحوصات الانزيمية الكيموحيوية.

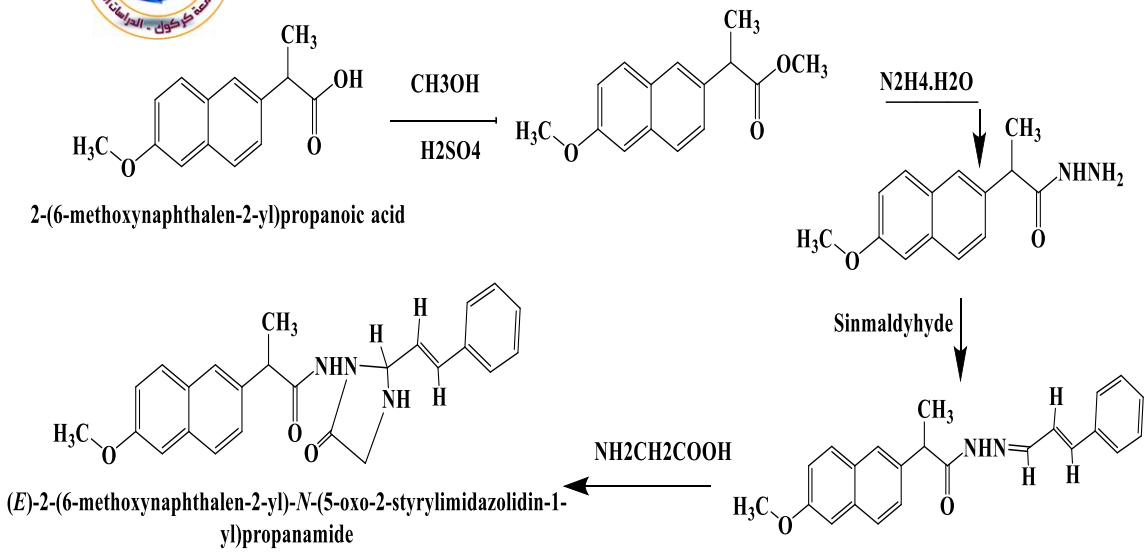
التجارب Experiences

الجزء العملي العضوي:

تحضير المركب (4- Imidazolidine-4-one)

تم تحضير المركب (4- Imidazolidine-4-one) كالآتي: تم خلط مادة حامض النابروكسين Naproxen acid مع ٣ مل من حامض الكبريتيك المركز H2SO4 concentration و٢٥٠ مل من الميثانول Methanol وترك الخليط ٤ ساعات لأكمال التفاعل فكان الناتج مركب النابروكسين أستر Naproxen ester تم مزج ٥ ملغم من هذا المركب مع ٥ مل من هايدرازين Hydrazine مع ١٥٠ مل من سلورنت ايثانول ويترك الخليط لمدة ٨ ساعات لاتمام التفاعل وكان الناتج نابروكسين هيدرازيد Naproxen Hydrazine . مزج ٠,٠٠١ مول من نابروكسين هيدرازيد Naproxen Hydrazine مع ٠,٠٠١ مول من أنس ألديهايد Anisaldehyde وأضفنا ٣ قطرات من الايثانول Ethanol وترك الخليط لمدة ٨ ساعات لاكمال التفاعل وكان الناتج شف بيس Schiff- base. تم مزج ٠,٠٠١ مول من Schiff- base مع ٠,٧٥ غم من كلايسين مع ٢٥ مل من Dioxane وترك الخليط ١٢ ساعة لاكمال التفاعل وكان الناتج مركب ٤-ايميدازولدين -٤-اون (4- Imidazolidine-4-One) والمعادلات التالية تبين كيفية تحضير المركب:

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849



الاختبارت الكيموحيوية :

استخدمنا في هذه الدراسة مجموعتين من الارانب المختبرية تتكون مجموعة السيطرة من اربعة ارانب والمجوعة المعاملة من ثمانية ارانب تركت جميعها بدون طعام لمدة (٢٤ ساعة)، وتم تجريع المجموعة المعاملة جرعة مقدارها (٥٠مغلم /كغم) من المركب (AB) والمذاب في ثنائي مثيل سلفوكساييد وتركت مجموعة السيطرة بدون تجريع.

تم قياس المتغيرات الكيموحيوية عن طريق سحب الدم من القلب وبعدها فصل الدم بواسطة عدة الفصل جهاز الطرد المركزي الى بلازما ومصل وحفظ في أنابيب حافظة وقياس فعالية كل ممايأتي:

تقدير فعالية انزيم الكولين استراز في مصل الدم

تم قياس فعالية الانزيم بطريقتين هما:

- قياس نشاط خميرة الكولين استراز في مصل الدم بطريقة إلمان اللونية

تم استخدام طريقة إلمان اللونية في قياس نشاط خميرة الكولين استراز في مصل الدم. وكانت الطريقة كالآتي:

- ٣ مل من درائ الفوسفات ،بأها ٨ .
- ٠.١ مل من محلول DTNB .
- ٢٠ مايكرو ليتر من بلازما الدم او جانسة الانسجة .

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

- ٢٠ مايكرو ليتر من المادة الاساس (يوديد الاستيل ثايو كولين) .
- الحضن بدرجة حرارة ٢٥ مْ ولمدة عشر دقائق .
- قراءة الامتصاص عند طول موجي قدره 412 نانوميتر بواسطة جهاز المطياف الضوئي ضد الكفء الذي لم يوضع فيه المصل.

حساب نشاط الخميرة [٢٢]

نشاط خميرة الكولين استراز في البلازما =

$$\frac{\text{التغير في الامتصاص x مايكرومول x حجم التفاعل (مل)}}{\text{دقيقة x ١٣.٦ x حجم العينة (مل)}}$$ = مايكرو مول / دقيقة / مل .

قياس نشاط خميرة الكولين استراز بطريقة كهرومترية

تم استخدام الطريقة الكهرومترية لقياس نشاط خميرة الكولين استراز في مصل الدم وكانت الطريقة كالآتي:

- يوضع ٣ مل من الماء المقطر في اناء زجاجي سعته ١٠ مل.
- يضاف ٠.٢ مل من عينة البلازما او من جانسة احد الانسجة .
- اضافة ٣مل من محلول داريء الفوسفات البأها٨.١ ويمزج .
- قياس البأها -١ (pH-1) للمزيج بواسطة جهاز مقياس البأها .
- يضاف ٠.١٢ مل من محلول يوديد الاستيل كولين ٧.٥ % كمادة اساس .
- ينقل المزيج الى الحمام المائي المضبوط عند درجة حرارة ٣٧ مْ ويحضن لمدة ٣٠ دقيقة .
- قياس البأها -٢ (pH-2) بعد اخراج العينة مباشرة من الحاضنة .
- يحسب مقدار التغير في قيمة البأها والذي يمثل مقدار الفرق بين البأها ١ والبأها ٢ خلال ٣٠ دقيقة ،وهذه النتيجة تعكس نشاط الخميرة في العينة المستخدمة [٢٣] وكما يلي :

التغير في البأها /٣٠ دقيقة = البأها١ –البأها ٢ – (التغيير في البأها الكفء) .

Δ pH/30 min = (pH1 –pH2) - Δ pH of blank

ويحتوي الكفء على كافة المحاليل عدا عينة البلازما [١٥].

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

تقدير فعالية انزيم كلوتاميت اوكزالوإستيت ترانس ايمينيز في مصل الدم: Determination of Glutamate oxaloacetate Transaminase GOT level in serum.

تم تقدير فعالية ترانس امينيز من عدة (Kit) المصنعة من شركة (biolabo) الفرنسية.

تقدير فعالية انزيم كلوتاميت بايروفيت ترانس ايمينيز في مصل الدم: Determination of Glutamate pyruvate transaminase GPT level in serum.

تم تقدير فعالية ترانس أمينيز من عدة (Kit) المصنعة من شركة (biolabo) الفرنسية.

تقدير مستوى الكوليستيرول في مصل الدم : Determination of Cholesterol level in serum.

تم تقدير نسبة الكوليستيرول من عدة (Kit) المصنعة من شركة (biolabo) الفرنسية.

التحليل الاحصائي Statistical analysis

تم تحليل النتائج باختبار Student`s-t-test [٢٤]، ثم أخضعت النتائج إلى إختبار الفرق المعنوي الأدنى Lest significant difference test [٢٥].

النتائج Results

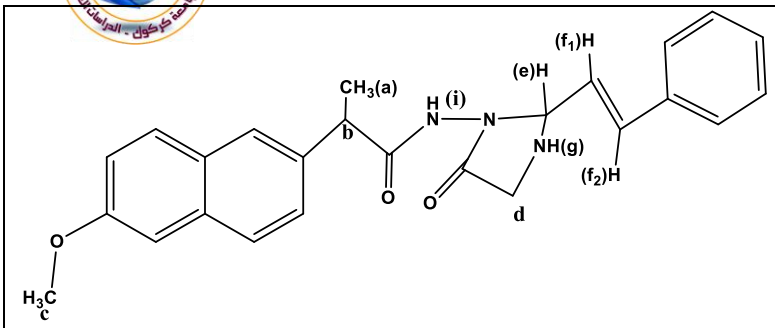
الجزء العضوي

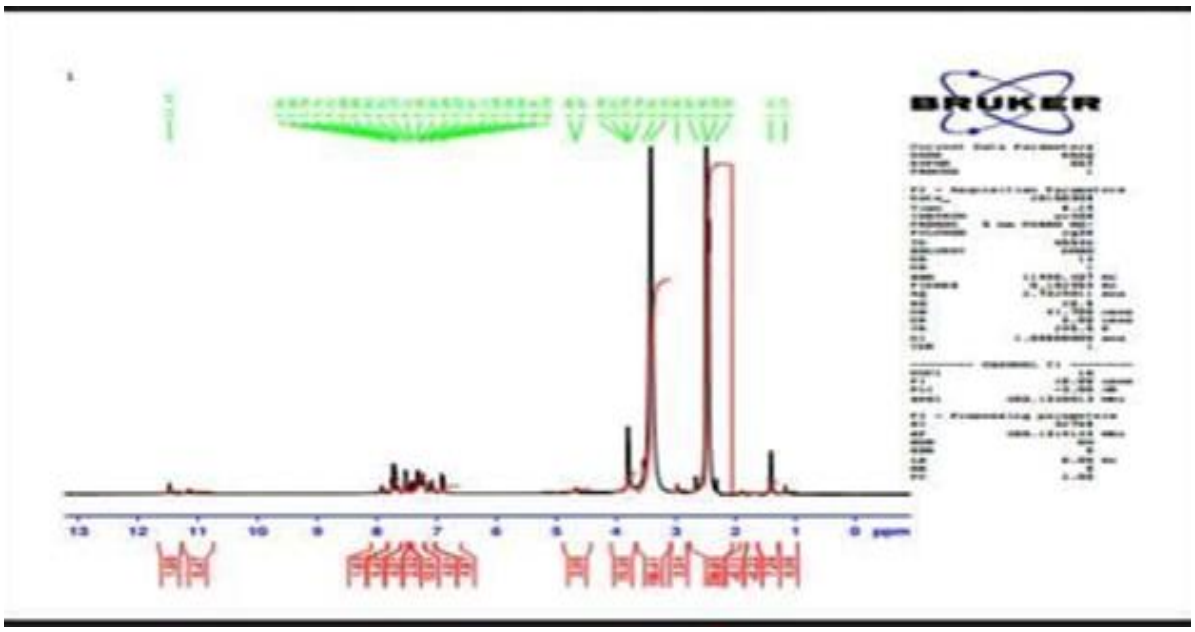
(تحضير المركب 4- Imidazolidine-4-one)

الجدول (١) يوضح طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون

Compound	1H.nmr Chemical Shift(ppm

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

	H(a)=1.41 ,1H,doublet H(b)= 3.4 ,1H,quarter H(c)=3.9 ,3H,Singlet H(d)=4.4 ,1H,doublet H(e) =2 ,1H,singlet H(f1)=6.8 ,1H,triplet H(f2)=6.9 ,1H,doublet H(Aromatic)=7-8 ,10H,multible H(i)=11.61 ,1H,singlet

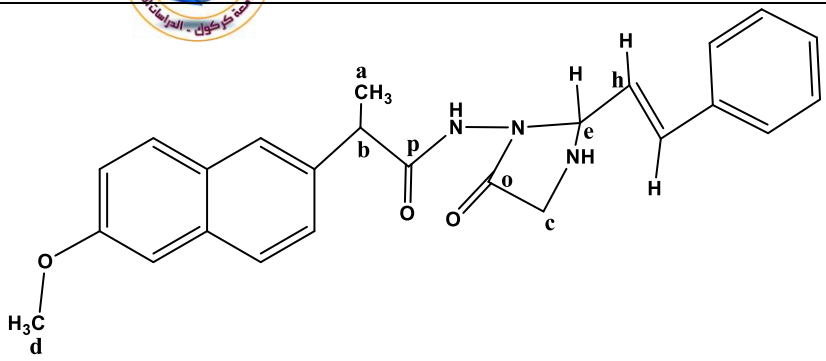


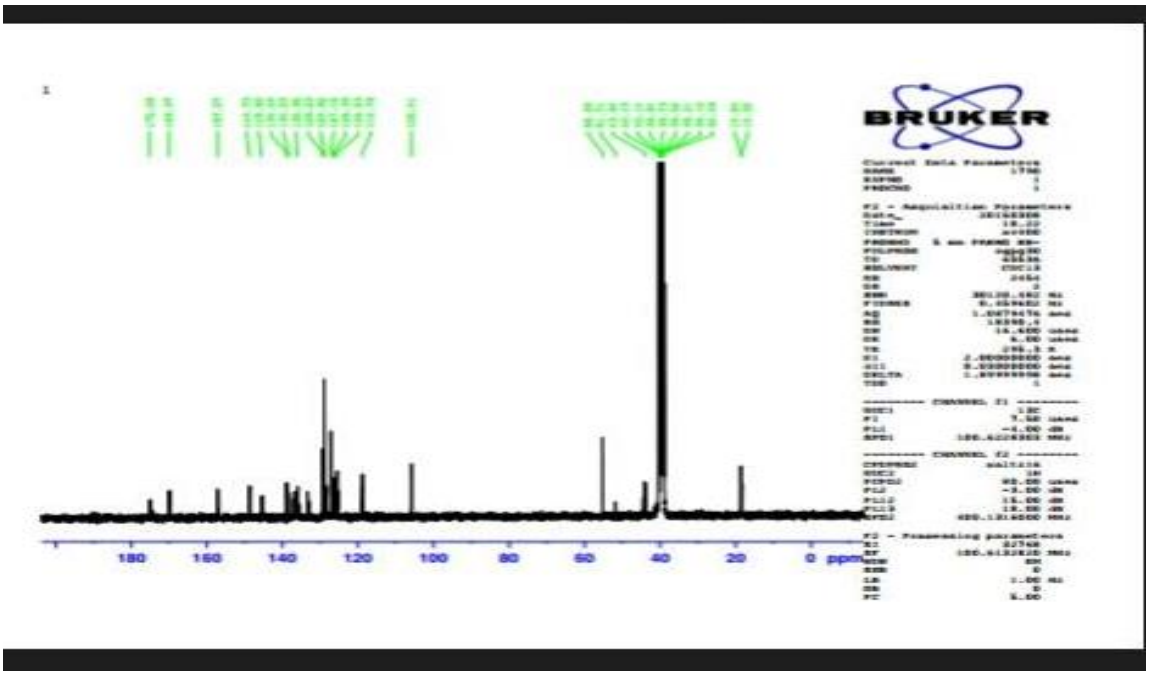
الشكل رقم (١) يوضح طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ^{1}H-NMR

جدول (٢) يوضح طيف الرنين النووي المغناطيسي للكربون

Compound	13C.nmr Chemical Shift (ppm)

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

	a=18.17 b=42.40 c=54.73 d=58.14 e=107.41 $^{13}C_{Aromatic}$=119.74-169.11 O=174.09 P=177.04



الشكل (٢) يوضح طيف الرنين النووي المغناطيسي للكربون

الجزء الكيموحيوي

قياس نشاط خميرة الكولين استراز في مصل الدم

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

أدى تجريع الارانب بالمركب (4- Imidazolidine- 4- One) بالجرعة (٥٠ ملغم/كغم) الى تثبيط معنوي في نشاط خميرة الكولين استراز وتم القياس بطريقتيّ مايكل المحورة (الجدول ٣) وطريقة إلمان (الجدول ٤) وذلك للتأكد من دقة وصحة القياس.

طريقة مايكل المحورة:

الجدول- ٣ نشاط خميرة الكولين استراز عند القياس باستخدام طريقة مايكل المحورة

Group	N	Mean	T test	p. value 0.05
control ck	4	0.21 ± 2.02	3.35	17.2
sample ck [A]	6	0.047 ± 0.005 [A]		

[A] القيمة تختلف معنوياً عن مجموعة السيطرة عند مستوى احتمال (آ) اقل من ٠.٠٥

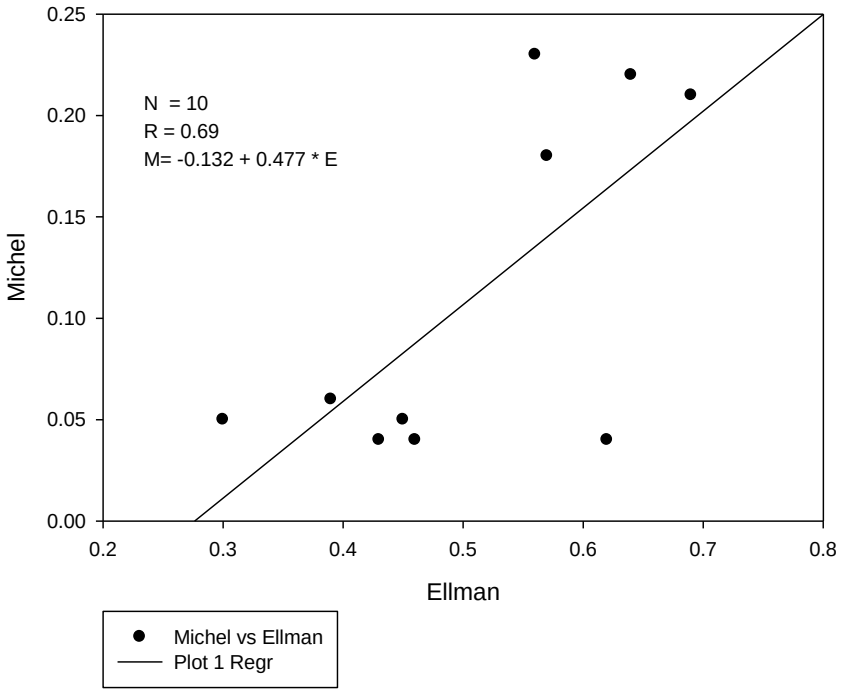
طريقة إلمان:

الجدول- ٤ نشاط خميرة الكولين استراز عند القياس باستخدام طريقة إلمان

Group	N	Mean	T test	. value 0.05
control ck	4	0.6 ± 0.006	3.3	2.2
sample ck [A]	6	0.4 ± 0.08 [A]		

[A] القيمة تختلف معنوياً عن مجموعة السيطرة عند مستوى احتمال (آ) اقل من ٠.٠٥

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849



الشكل (٣) يوضح معامل الارتباط وتحليل الانحدار بين طريقتيّ مايكل وإلمان

تقدير فعالية انزيم كلوتاميت اوكزالوإستيت ترانس ايمينيز في مصل الدم:

لم يؤثر المركب(4- Imidazolidine- 4- One) بعد تجريع الارانب بالمركب بالجرعة (٥٠ ملغم/كغم) على فعالية انزيم كلوتاميت اوكزالوإستيت ترانس ايمينيز في مصل الدم حيث لم يكن هناك فرق معنوي بين مجموعة السيطيرة والمجموعة التي تم اعطاءها المركب (4- Imidazolidine- 4- One) كما تظهر النتائج في (الجدول ٥) .

الجدول- ٥ يبين فعالية انزيم كلوتاميت اوكزالوإستيت ترانس ايمينيز بعد القياس بعدة (kit) الخاصة بالانزيم

Group	N	Mean	T test	p. value 0.05

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

control GOT	4	96.5 ± 5.8	1.7	2.2
Sample GOT [A]	8	84.3 ± 15.2 [A]		

[A] القيمة لا تختلف معنوياً عن مجموعة السيطرة عند مستوى احتمال (آ) اقل من ٠.٠٥

تقدير فعالية انزيم كلوتاميت بايروفيت ترانس ايمينيز في مصل الدم

لم يؤثر المركب(4- Imidazolidine- 4- One) بعد تجريع الارانب بالمركب بالجرعة (٥٠ ملغم/كغم) على تقدير فعالية انزيم كلوتاميت بايروفيت ترانس ايمينيز في مصل الدم حيث لم يكن هناك فرق معنوي بين مجموعة السيطرة والمجموعة التي تم اعطاءها المركب (4- Imidazolidine- 4- One) كما تظهر النتائج في (الجدول ٦) .

الجدول- ٦ يبين فعالية انزيم كلوتاميت بايروفيت ترانس ايمينيز بعد القياس بعدة (kit) الخاصة بالانزيم

Group	N	Mean	T test	p. value 0.05
control GPT	4	56.3 ± 1.8	0.04	2.2
Sample GPT [A]	8	55.8 ± 30.6 [A]		

[A] القيمة لا تختلف معنوياً عن مجموعة السيطرة عند مستوى احتمال (آ) اقل من ٠.٠٥

قياس مستوى الكوليسترول الكلي:

تم قياس مستوى الكوليسترول الكلي ويظهر في (الجدول ٧) ارتفاع معنوي في مستوى الكوليسترول الكلي للحيوانات االتي تم تجريعها مقارنة بالسيطرة حيث بلغت القيمة عندهم (63±2.5)U/L بينما بلغت عند الحيوانات التي تم إعطائهم النموذج (99.8±5.1)U/L. حيث تتفق هذه الدراسة مع الباحثين ان النسبة تزداد عن المعدل الطبيعي عند التعرض لمركبات الايميدازولدين اوعند الاصابة في أمراض اخرى كالضغط وتصلب الشرايين الخ.

الجدول- ٧ يبين مستوى الكولستيرول في مجموعة السيطرة والمجموعة التي تم تجريعها بالمركب AB

Group	N	Mean	T test	p. value 0.05
control CHE	*4*	63 ± 2.5	-3.9	2.2
Sample CHE [A]	8	99.8 ± 5.1 [A]		

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

[A]القيمة تختلف معنوياً عن مجموعة السيطرة عند مستوى احتمال (آ) اقل من ٠.٠٥

المناقشة Discussion

تمكنا في هذه الدراسة من تحضير المركب (4- Imidazolidine-4-one) وذلك باشتقاقهِ من النابروكسين وكذلك تم التاكد من المركب وتشخيصه باستخدام الطرق الطيفية (H-NMR,FTIR, 13C-NMR) [١، ٢٦] تم اعطاء المركب بالجرعة ٥٠ ملغم/كغم للأراب عن طريق الفم ثم دراسة تأثيره على بعض المتغيرات الحيوية في مصل دم الارانب ، حيث تبين ان المركب له تأثير تثبيطي معنوي على نشاط خميرة الكولين استراز في مصل دم الارانب وتم قياس نشاط خميرة الكولين استراز باستخدام طريقتين للقياس وهما طريقة مايكل المحورة [٢٧-٢٩]، وطريقة إلمان [٣٠-٣٢]، ويمكن الاستفادة من هذا الفعل للمركب (4- Imidazolidine-4-one) في علاج المرضى المصابين بمرض الزهايمر حيبث ان هولاء المرضى يعانون من نقص في كمية الناقل العصبي الاستيل كولين وعند تثبيط خميرة الكولين استراز التي تعمل على تحلل الناقل العصبي سوف تتوفر كميات من الناقل العصبي الاستيل كولين مما يسهل في ايصال النبضة العصبية بالشكل الصحيح [٣٣]، ولم يكن هناك تأثير معنوي للمركب (4-Imidazolidine-4-one) على فعالية انزيمي (GOT,GPT) في مصل دم الارانب [٩، ١٨]، بينما كان هناك تأثير معنوي في زيادة مستوى الكوليسترول في مصل دم الارانب وهذا ما تطابق مع دراسات سابقة في نفس المجال [٢٠].

الاستنتاجات Conclusions

بينت هذه الدراسة ان المركب (4- Imidazolidine-4-one) الذي تم تحضيره له تأثير تثبطي واضح على نشاط خميرة الكولين استراز وقد يمكن استخدامه في علاج حالات الاصابة بمرض الزهايمر، وكذلك فان المركب قد زاد وبشكل معنوي مستوى الكولسترول في مصل دم الارانب ،ولم يكن له تاثير معنوي على فعالية كل من الانزيمين (GOT,GPT).

شكر وعرفان Acknowledgments

يطيب لي ان أتقدم بالشكر والعرفان الى كلية الطب البيطري جامعة كركوك وذلك لإفساحهم المجال لاكمال الدراسة في كليتهم وكذلك الشكر موصول الى الدكتور محمد ابراهيم مصطفى كلية الزراعة/حويجة لجهوده في اكمال التحليل الاحصائي لبيانات هذه الدراسة لكي تظهر بهذا الشكل.

المصادر

References

1. Loesche, A., Wiese, Jana.,Sommerwerk, Sven.,Simon, Vivienne.,Brandt, Wolfgang.,Csuk, René., *Repurposing N, N'-bis-(arylamidino)-1, 4-piperazinedicarboxamidines: An unexpected class of potent inhibitors of cholinesterases.* European Journal of Medicinal Chemistry, 2017. **125**: p. 430-434.

2. Abdullah, S.A., Al Hassani, Rehab AM.,Atia, Abdul Jabar Kh.,Hussein, Ali A., *Synthesis ،Characterization, and Enzyme Activity of Co (II), Ni (II), Cu (II), Pd (II), Pt (IV) and Cd (II) Complexes with 2-Thioxoimidazolidin-4-One Derivative.* Acta Chimica and Pharmaceutica Indica, 2016.v 6.3.
3. Haverty, D., Kennedy, Brendan., Cheppe, Patrick., Desfontaine, Vincent Olivier Jacquey., *Processes and apparatus for surface modification*, 2015, Google Patents.
4. Ivanenkov, Y.A., Veselov, Mark S., Chufarova, Nina V., Majouga, Alexander G., Kudryavceva, Anna A., Ivachtchenko, Alexandre V., *Non-dopamine receptor ligands for the treatment of Parkinson's disease. Insight into the related chemical/property space.* Molecular diversity, 2016. **20**(1): p. 345-365.
5. Rault, M., C .Mazzia, and Y. Capowiez, *Tissue distribution and characterization of cholinesterase activity in six earthworm species.* Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2007. **147**(2): p. 340-346.
6. Lu, Y., Pang, Yuan-Ping., Park, Yoonseong., Gao, Xiwu., Yao, Jianxiu., Zhang, Xin., Zhu, Kun Yan., *Genome organization, phylogenies, expression patterns, and three-dimensional protein models of two acetylcholinesterase genes from the red flour beetle.* PLoS One, 2012. **7**(2): p. e32288.
7. Wilson, B.W., Henderson, John D., Ramirez, Al., O'Malley, Michael A., *Standardization of clinical cholinesterase measurements.* International journal of toxicology, 2002. **21**(5): p. 385-388.

8. Tsim, K. and H. Soreq, *Acetylcholinesterase: old questions and new developments.* Acetylcholinesterase: Old Questions and New Developments, 2013: p. 4.
9. Cabal, J., J. Bajgar, and J .Kassa, *Evaluation of flow injection analysis for determination of cholinesterase activities in biological material.* Chemico-biological interactions, 2010. **187**(1): p. 225-228.
10. Habib, M.M., M.A. Abdelfattah, and A.H. Abadi, *Design and synthesis of novel phenylpiperazine derivatives as potential anticonvulsant agents.* Archiv der Pharmazie, 2015. **348**(12): p. 868-874.
11. Gunduz, A., Kalkan, Asim., Turedi, Suleyman., Durmus, Ismet., Turkmen, Suha., Ayaz, Faik Ahmet., Ayar, Ahmet., *Pseudocholinesterase levels are not decreased in grayanotoxin (mad honey) poisoning in most patients.* The Journal of emergency medicine, 2012. **43**(6): p. 1008-1013.
12. Wang, H.P., Liang, Yu-Jie., Sun, Ying-Jian., Hou, Wei-Yuan., Chen, Jia-Xiang., Long, Ding-Xin
Xu, Ming-Yuan., Wu, Yi-Jun., *Subchronic neurotoxicity of chlorpyrifos, carbaryl, and their combination in rats.* Environmental toxicology, 2014. **29**(10): p. 1193-1200.
13. Ellman, G.L., Courtney, K Diane., Andres, Valentino., Featherstone, Robert M., *A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity.* Biochemical pharmacology, 1961. **7**(2): p. 88-95.
14. Michel, H.O., *An electrometric method for the determination of red blood cell and plasma cholinesterase activity.* Journal of laboratory and clinical medicine, 1949. **34**: p. 1564-1568.

15. Naik, R.S., W. Liu, and A. Saxena, *Development and validation of a simple assay for the determination of cholinesterase activity in whole blood of laboratory animals.* Journal of Applied Toxicology, 2013. **33**(4): p.٣٠٠-٢٩٠ .
16. Horton, J.D., J.L. Goldstein, and M.S. Brown, *SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver*. The Journal of clinical investigation, 2002. **109**(9): p. 1125-1131.
17. Raj, R., Mehra, Vishu., Gut, Jiri., Rosenthal, Philip J., Wicht, Kathryn J., Egan, Timothy J., Hopper, Melissa., Wrischnik, Lisa A., Land, Kirkwood M., Kumar, Vipan., *Discovery of highly selective 7-chloroquinoline-thiohydantoins with potent antimalarial activity*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2014. **84**: p. 425-432.
18. Shani-Adir, A., Lucky, Anne W., Prendiville, Julie., Murphy, Sharon., Passo, Murray., Huang, Frederick S.,Paller, Amy S., *Subcutaneous panniculitic T-cell lymphoma in children: response to combination therapy with cyclosporine and chemotherapy.* Journal of the American Academy of Dermatology, 2004. **50**(2): p. 18-22.
19. Popkov, A. and P. H Elsinga, *Asymmetric synthesis of carbon-11 labelled α-amino acids for PET*. Current Organic Chemistry, 2013. **17**(19 :(p. 2127-2137.
20. Ziegler-Borowska, M., Chylinska, Marta., Kedziera, Dariusz., Kaczmarek-Kedziera, Anna
., *Simple and efficient synthesis with theoretical calculations of novel N-halamine monomers.* Designed Monomers and Polymers, 2014. **17**(6): p. 528-534.

21. Cunha, T.J. and P.R. Cheeke, *Rabbit feeding and nutrition*2012: 008057078X

Elsevier.

22. Abass, K.S., *A method for fast assessment of OP/CB exposure in the Japanese quail (Coturnix coturnix japonica) using combined esterases enzyme activity as biomarkers.* Enzyme research, 2014. 2090-0406.
23. Horowitz, I.H., Goldstein, Joseph L., Brown, Michael S., *Whole blood cholinesterase activity in 20 species of wild birds.* Journal of avian medicine and surgery, 2016. **30**(2): p. 122-126.
24. Lenglet, C., Rousson, Mikaël., Deriche, Rachid., Faugeras, Olivier., ., *Statistics on the manifold of multivariate normal distributions: Theory and application to diffusion tensor MRI processing.* Journal of Mathematical Imaging and Vision, 2006. **25**(3): p. 423-444.
25. Cornblatt, B.A., M.F. Lenzenweger, and L. Erlenmeyer-Kimling, *The continuous performance test, identical pairs version: II. Contrasting attentional profiles in schizophrenic and depressed patients.* Psychiatry research, 1989. **29**(1): p. 65-85.
26. Padalia, H., Ramavat, Paras., Baluja, Shipra., Chanda, Sumitra., *SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND SCREENING OF 2-THIOXOIMIDAZOLIDIN-4-ONE AS POTENTIAL ANTIMICROBIAL AGENTS.* 2014 e 7, 1473-1479.
27. Mohammad, F., G. Faris, and N. Al-Kassim, *A modified electrometric method for measurement of erythrocyte acetylcholinesterase activity in sheep.* Veterinary and human toxicology, 1997. **39**(6): p. 337-339.
28. Mohammad, F. and V. St Omer, *Modifications of Michel's electrometric method for rapid measurement of blood cholinesterase*

activity in animals: a minireview. Veterinary and human toxicology, 1982. **24**(2): p. 119.

29. Mohammad, F., Alias, AS., Faris, GA-M., Al-Baggou, B Kh., *Application of an electrometric method for measurement of blood cholinesterase activities in sheep, goats and cattle treated with organophosphate insecticides.* Journal of Veterinary Medicine Series A, 2007. **54**(3): p. 140-143.
31. Šinko, G., Čalić, Maja., Bosak, Anita., Kovarik, Zrinka, *Limitation of the Ellman method: Cholinesterase activity measurement in the presence of oximes.* Analytical biochemistry, 2007. **370**(2): p. 223-227.
32. Askar, K.A., A.C. Kudi, and A.J. Moody, *Comparative analysis of cholinesterase activities in food animals using modified Ellman and Michel assays.* Canadian Journal of Veterinary Research, 2011. **75**(4): p. 261-270.
33. Haigh, J.R., Lefkowitz, Lee J., Capacio, Benedict R., Doctor, Bhupendra P., Gordon, Richard K
., *Advantages of the WRAIR whole blood cholinesterase assay: comparative analysis to the micro-Ellman, Test-mate ChE™, and Michel (ΔpH) assays.* Chemico-biological interactions, 2008. **175**(1): p. 417-420.
34. Wang, C., Alluri, S., Nikogosyan, G., DeCarlo, C., Monteiro, C., Mabagos, G., Feng, HH., White, AR., Bartolini, M., Andrisano, V, *Novel synthesis of physovenine and physostigmine analogs.* Tetrahedron Letters, 2016. 0040-4039.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849