الباب الثالث عشر

التنشيط و إستعادة نشاط الأنزيم بالمنشطات

التنشيط وإستعادة نشاط الإنزيم بالمنشطات

(Reactivation & Reactivators)

سبق وأن تكلمنا عن كيفية إستعادة الإنزيم المفسفر أو المكربم لنشـــاطه مرة أخرى بدون منشطات فى وسط التفاعل كذلك عرفنا أن جزيئات الســموم و الملوثات الفوسفاتية ذات ثابت معدل إزالـــة الفســفرة (Dephosphorylation constant) بطيىء نوعا ما ، فبمجرد خروج المجموعة التاركة مـــن جزيئـــى المركب فإن معدل الإستعادة يتوقف على طبيعة الجزيئى والأنزيم نفسه :

ففى حاله أنزيم الأسيتيل كولين استيريز بكرات دم الآرانب / ٣٧ ° م فإن مركب :

- داى ميثيل فوسفات يترك الأنزيم حر بعد فتره نصف حيـــاه (Half life : $t_{0.5}$) قدرها ٨٠ دقيقة .
- فى حين حاله داى إيثيل فوسفات يـــترك الأنزيـــم حـــر بعـــد فـــترة نصف حياه (Half life : $t_{0.5}$) قدرها ٥٠٠ دقيقة .
- داى أيسو بروبيل فلا يترك الإنزيم ويظل مثبط له
- داى ميثيل فوسفات فتترك سطح الإنزيم بعد ٢٠٠ ساعة

بإستخدام المواد المنشطة أمكن بكثير من الحالات إسراع خطـــوة إزالـــة الفسفرة التى يمثلها ثابت معدل التفاعل (K_3) خارج الجسم وهى ذات طبـيعة علاجية فى حالات التسمم خاصة ما إذا كان جزيئى المثبط غير مباشر حيـث يثبط ٥٠% من النشاط الإنزيمى عند تركيز $١٠^{-٣} - ١٠^{-٤}$ مول وهـــو مـــا يشير لحدوث التفاعل فى إتجاه عكسى (Reversible) لحدوث تثبيـــط تنافســـى (Competitive inhibition) وهنا تكون الفترة التى يستغرقها معدل ثابت الفســـفرة (K_3) صغيرة جدا فلا يتمكن معها جزيئى السم من تثبت نفسه جيـــداً أمـــا إذا كان المثبط قوى (مباشر) وذو أثر متبقى طويل كغالبية السموم الفوســـفورية العضوية وقله من السموم الكرباماتية العضوية حيث يثبط ٥٠% من النشـــاط الإنزيمى عند تركيز جزيئى $١٠^{-٦} - ١٠^{-٤}$ فان التفاعل يصبح غير عكســـى

(Irreversible) لحدوث تثبيط غير تنافسي (Non competitive inhibition) وهنا تكون الفترة التي يستغرقها معدل ثابت تفاعل إزالة الفسفرة (K_3) طويلة وخلالها يتمكن جزيئي الإنزيم من تثبيت نفسه جيداً على سطح الإنزيم ولا يتمكن من إستعادة نشاطه سريعاً مما يؤدي لحدوث فشل (Aging) في إستعادة نشاطه مرة أخرى فيظل جزيئي المركب السام عالق بسطح جزيئي الإنزيم .

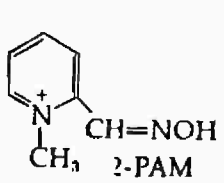
والمواد المنشطة ذات طبيعة نيوكليوفيلية (Nucleophilic) تمكنها من الهجوم التنافسي على ذرة الفوسفور فتستبدل أكسيجين مجموعة الهيدروكسيل لحمض السيرين بسطح الإنزيم فيترك حر وترتبط مع ذرة الفسفور ويمكن وصفها ببساطة على كونها مجموعة (R-H) حيث تتصل ذرة الهيدروجين بالمركز النيوكليوفيللي (O) وكلما كان جزيئي المنشط في صورة مجموعة أمونيوم رباعية تتصل بالمركز الأنيوني كلما كان أفضل في القيام بوظيفته :

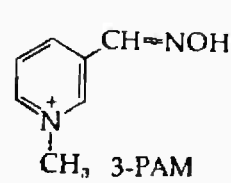
$$R\text{-}CO\text{-}NHOH \longleftrightarrow R\text{-}CO\text{-}NHO^- + H^+$$

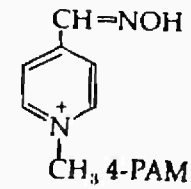
$$R\text{-}CH{=}NOH \longleftrightarrow R\text{-}CH{=}NO^- + H^+$$

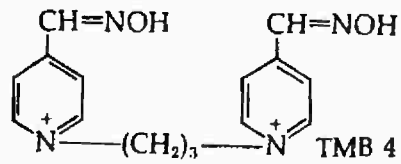
وتعتمد فاعلية جزيئي المنشط على :

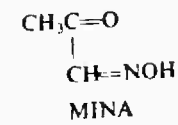
أ- نوع المنشط فجزيئي المنشط (2-Paralidoxime : 2- PAM) أقوى ٣٠٠٠٠٠ مره قدر جزيئي المنشط (3-Paralidoxime : 3- PAM) وتبلغ قوة الأخيره ضعف المنشط (4-Paralidoxime : 4- PAM)











كذلك فمركب (TMP4) يعد أقوى منشط فتبلغ قوته ٢٢ مرة قدر (2-PAM) مع الإنزيم المفسفر داى إيثيل فوسفوريل أسيتيل كولين لوجود القنطرة الداخلية المحتوية على ثلاث مجاميع ميثيلين لكنه غير آمن .

كذلك تعد الأوكسيمات أكثر فاعلية عن الهيدروكسامات . وقد تدخل ذرات أو مجاميع مختلفة على ذرة النيتروجين فى مركب(2-PAM): فتؤدى لعدة مماكنات هى :

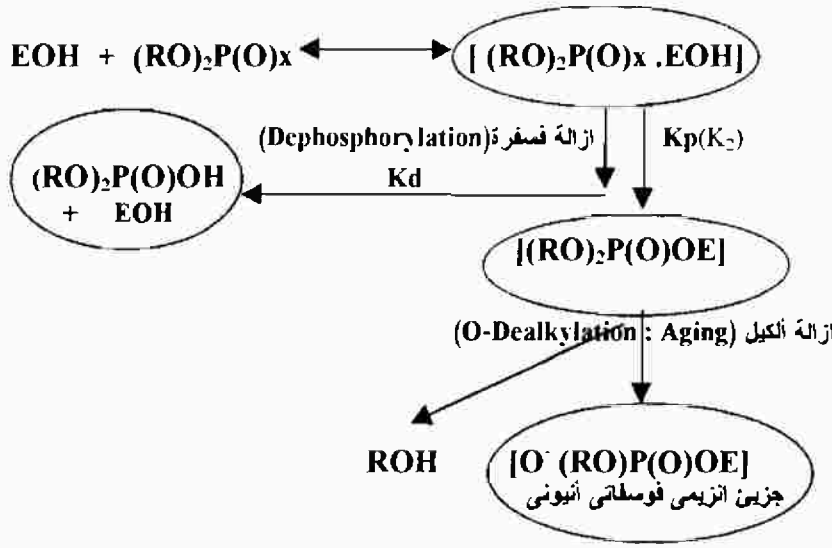
٢-باراليدو أكسيم أيوديد	(2-Paralidoxime iodide: 2- PAM iodide)
٢-باراليدو أكسيم كلوريد	(2-Paralidoxime chloride: 2- PAM chloride)
٢-باراليدو أكسيمسلفون	(2-Paralidoxime sulfone: 2- PAM sulfone)
داي أسيتيل مونوأكسيم	(DiAcetyl Monoxime :DAM)
مونو نيتروز أسيتون	(Mono Nitrose Acetone : MINA)

ب- نوع المركب المثبط : فجزيئى مركب داى أيزوبروبيل فوسفوريل كولين استيريز (D.I.P.Ch.E.) أكثر المركبات المثبطة صعوبة فى تنشيطة .

وتتنافس هذه المنشطات أولا مع جزئيات المركب السام التى مازالت حرة ولم ترتبط بسطح الإنزيم فتمنع بذلك إستمرارية زيادة نسبة جزيئاته من الإرتباط ثم تتنافس بعد ذلك باقى جزيئاته على الإرتباط بجزيئات السم العالقة والمثبتة على سطح الأنزيم محاولة تحرير وتخليص جزيئى الإنزيم منها عن طريق قوة النيوكليوفيليه لها بذرة الأكسيجين المتصلة بالنيتروجين و بالتالى يحتوى جزيئى السم وتغير حوالى ٨٠% من النشاط الإنزيمى المثبط فى أقل من دقيقه . ويلاحظ أن زيادة تركيزها عن ١٠ $^{-5}$ مول يؤدى الزائد عن ذلك إلى تثبيط الإنزيم ومن هنا وجب الحذر عند علاج حالات التسمم بها .

وعدم شفاء الإنزيم حتى بعد استخدام المنشطات لحدوث فشل (Aging) لحدوث تطوير تحويلى للإنزيم المثبط وتكوين شكل لا يمكن تنشيطة وهو ما يرجع لحدوث الفسفرة لحلقة الإيمدازول القاعدية بالحمض الأمينى هستدين بسطح الإنزيم ثم يهاجر باقى شق جزيئى السم لمجموعة هيدروكسيل حمض

السرين بالمركز الإستراتى بالإنزيم ليكون صورة ثابتة لا تتحلل ولكن حديثـا يميل التفسير إلى أن مجموعة هيدروكسيل حمض السرين المفسفر بجزيئـــى السم تزال منه مجموعة ألكيل أو تمثل ويكون الجزيئى الفوســـفاتى الأنيونـــى الناتج ، شكل رقم (١٣-١) غير حساس للمنشط النيوكليوفيلـــى أى يتحـــول لصورة خاملة بالنسبة لجزيئى المنشط لا تسترجع (Not recovered) .



شكل رقم (١٣-١) : مسار تكوين المشتق الفوسفاتى الأنيونى الغير حساس للمنشط

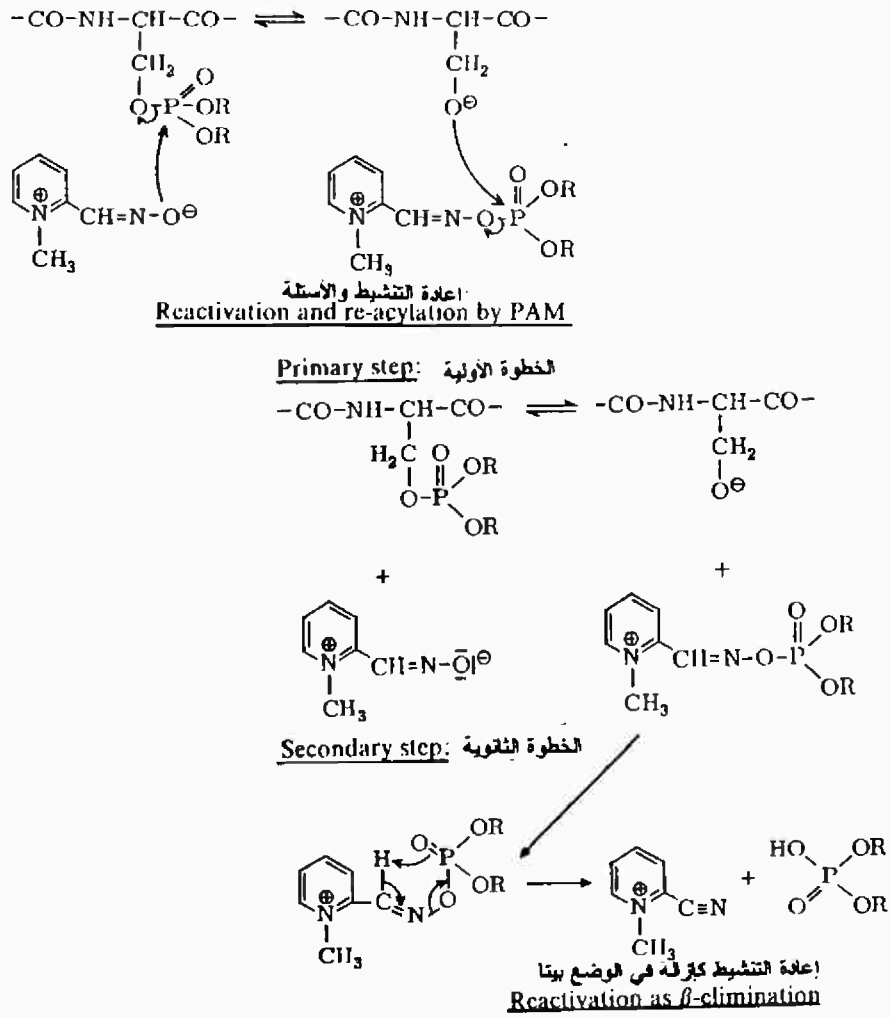
حيث يعتمد ثابت معدل إزالة الفسفرة (k_2) أى ثابت التثبيط على:

- الأنزيم
- المثبط

وليس على المجموعة التاركة حيث تزال قبـــل هـــذه الخطـــوة : أى الخطوة ذات الثابت (K_2) وعليه فان :

ثابت معدل التثبيط (Ki) = K_a / K_2

أى جهد التثبيط والمقاس بواسطته الثابت (k_3) يكون نتيجة الموائمة العاليـــه (ka) و الفسفرة (Kp) .

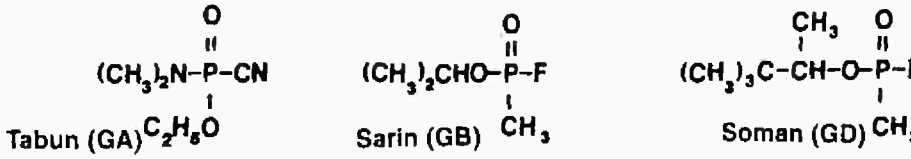


شكل رقم (١٣-٢) :إعادة تنشيط الإنزيم بالهيدروكسيل أمين

وطالما أن عملية الهجوم النيوكليوفيلى للمنشطات على ذرة الفوسفور لإحتوائها وتخليص الإنزيم من المثبط يتقدم التنافر الموجود نتيجة تماثل الشحنات وعليه فمعدل الفشل بجزيئى السم الفوسفاتى يعتمد بالدرجة الأولى على :

أ- مجموعات الألكيل المعلقة بذرة الفوسفور بنواة الفوسفات

ب- نوع الإنزيم المثبط : فجزئيات السموم الفوسفاتية تعط فشل ثابت (Instant aging) لإنزيم الأسيتيل كولين فى بوفين كرات دم البقر المثبطة بغازات الأعصاب كالسارين (Pinacolyl m. phosphoryl floride : Sarine) ففترة نصف حياه فشله هى ٢,٣ دقيقه /٣٧ مْ



وبناء على ذلك أجريت محاولات تعكس السمية فى الفقاريات متضمنة قاعدتين مختلفتين هما :

أ- إبطال و معادلة (Counter act) الزيادة من الأسيتيل كولين بواسطة أى عقار أو دواء مقاوم (Antagonist) كالأتروبين لإستعادة نشاط الأنزيم .

ب- إستعادة نشاط وفاعلية الإنزيم بواسطة (2-PAM) (ولا توجد طريقه فعالة للحشرات فالضرر يكون فى العقد العصبية بالجهاز العصبى المركزى ذو الطبيعة الليبوفيليه فى حين المواد المنشطة و الأتروبين مواد أيونية وقابلة للتأين (Ionic or Ionizable) تنفذ وبدرجة ضعيفة جداً لدرجة إهمالها بالحشرات)

فحقن الأتروبين يتنافس مع الأسيتيل كولين المنفرد (الحر) على المواقع النشطة بالمستقبل (فبقائها حرة بدون تحلل إنزيمى لتثبيط الإنزيم فتؤدى لإثارة عالية ، حيث وجودها يؤدى لإعاقة وبقاء مستقبلات الأسيتيل كولين فى صورة أيونيه موصله (Ion coducting) أو فى صورة وضع مفتوح (an open configuration) فيقاوم الأتروبين الفعل المثير للأسيتيل كولين و

يعوض إنفراد مستويات أخرى من الاسيتيل كولين نتيجة تثبيط الانزيم (يلاحظ انه عند الحق بالاتروبين يكون مستقبل الاتروبين معقد ولا يفتح) شكل رقم(١٣-٣)

وهنا يجب الإشارة لوجود نوعين من مستقبلات الأسيتيل كولين :

أ- **مستقبل أسيتيل كولين نيكوتيني** : يوجد بمناطق إتصال الأعصاب مع العضلات الهيكلية

ب -مستقبل أسيتيل كولين مسكريني : ويوجد بمناطق إتصال الأعصاب مع الغدد والعضلات الناعمة حيث للاتروبين ميل عالى نحو هذا المستقبل فيسطر على الأعراض المتضمنة زيادة العاب و التدميع والبول وضيق الحدقة و ربما تأثيرات مركزيه بالجهاز التنفسى والمخ والمتضمنة نتش عضلى بالعضلات الهيكليه وشلل .

و الأتروبين (ذره نتيروجين رباعية قاعدية ثابت تفككها ٩,٣ و بالتالى فعند تركيز أس أيون هيدروجين نجد أن نصف عدد جزيئاته متأينه ، أما عند أس أيون هيدروجين يساوى ٧ نجد أن ٩٨,٨ % أى يكون معظمه متأين عند أس تركيز أيون هيدروجين فسيولوجي حيث تنفذ الصورة المتأينه ببطىء شديد للمخ ومخزون الصورة المتأينه بالدم تغير الأتزان وتعطى صورة غير متأينة أكثر وفى نهاية الأتزانات سيتساوى تركيزه بالدم مع تركيزه بالمخ وهو ما يجعل الأتروبين فعال ضد المستقبلات المسكرنية بالجهاز العصبى المركزى و الطرفى .

ولأن تأثير (2-PAM) على جزيئات الإنزيم المثبط وليس على المستقبلات فإنه لا يمكنه التمييز بين الشبك العصبية المسكرنية و النيكوتينية فهو مركب أيونى بعكس الأتروبين وليس له تأثير على الشبك أى أنه لكون الأتروبين يساعد فى علاج التسمم بالشبك المسكرنية المركزية و الطرفية ولأن (2-PAM) يساعد فى علاج التسمم بالشبك المسكرنية و النيكوتينه فان استخدامهما معا لعلاج التسمم يكون أفضل عما لو أستخدم أيهما بمفرده أى أن العلاج يستخدم: ترياق (Antidotes) كولوني (Chlinolytic) :لسد المستقبلات الكولونية فى

الطرف البعد شبكى فتخلق حاجز لفعل السم عليها فتمنـــع تراكـم الأســيتيل كولين المنفرد تحت تأثير فعل هذه السموم .