

الباب الثالث عشر

التنشيط و إستعادة نشاط الأيزيم

بالمنشطات

obbeikandi.com

التنشيط وإستعادة نشاط الإنزيم بالمنشطات

(Reactivation & Reactivators)

سبق وأن تكلمنا عن كيفية إستعادة الإنزيم المفسفر أو المكربم لنشاطه مرة أخرى بدون منشطات في وسط التفاعل كذلك عرفنا أن جزيئات السموم و الملوثات الفوسفاتية ذات ثابت معدل إزالة الفسفرة (Dephosphorylation constant) بطبيء نوعا ما ، فبمجرد خروج المجموعة التاركة من جزيئى المركب فإن معدل الإستعادة يتوقف على طبيعة الجزيئى والأنزيم نفسه :
ففى حالة أنزيم الأستيل كولين استيريز بكرات دم الأرانب / ٣٧ م فإن
مركب :

- داي ميثيل فوسفات يترك الأنزيم حر بعد فترة نصف حياه (Half life : $t_{0.5}$) قدرها ٨٠ دقيقة .
- فى حين حاله داي إيثيل فوسفات يترك الأنزيم حر بعد فترة نصف حياه (Half life : $t_{0.5}$) قدرها ٥٠٠ دقيقة .
- داي أيسو بروبييل فلا يترك الإنزيم ويظل مثبت له
- داي ميثيل فوسفات فنترك سطح الإنزيم بعد ٢٠٠ ساعة

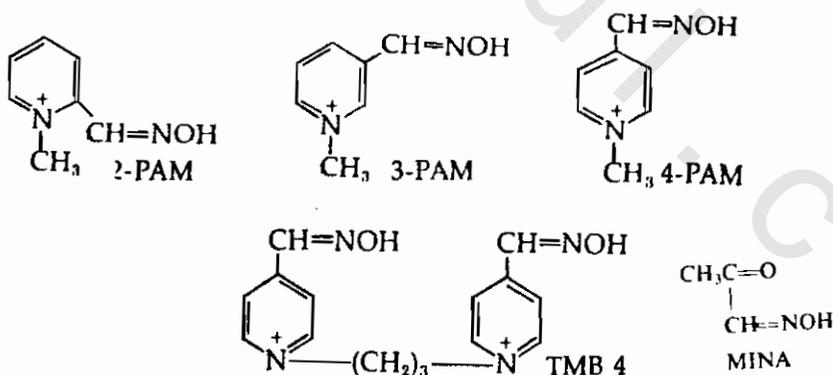
بإستخدام المواد المنشطة أمكن بكثير من الحالات إسراع خطوة إزالة الفسفرة التى يمثلها ثابت معدل التفاعل (K_3) خارج الجسم وهى ذات طبيعة علاجية فى حالات التسمم خاصة ما إذا كان جزيئى المثبط غير مباشر حيث يثبط ٥٠% من النشاط الإنزيمى عند تركيز 10^{-10} - 10^{-1} مول وهو ما يشير لحدوث التفاعل فى إتجاه عكسى (Reversible) لحدوث تثبيط تنافسى (Competitive inhibition) وهنا تكون الفترة التى يستغرقها معدل ثابت الفسفرة (K_3) صغيرة جداً فلا يتمكن معها جزيئى السم من تثبيت نفسه جيداً أما إذا كان المثبط قوى (مباشر) وذو أثر متبقى طويل كغالبية السموم الفوسفورية العضوية وقله من السموم الكرباماتية العضوية حيث يثبط ٥٠% من النشاط الإنزيمى عند تركيز جزيئى 10^{-7} - 10^{-1} فإن التفاعل يصبح غير عكسى

(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 جيدا على سطح الإنزيم ولا يتمكن من إستعادة نشاطه سريعا 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 أكسجين 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 النيوكليوفيلي (O) وكلما كان جزيئي المنشط في صورة مجموعة أمونيوم رباعية تتصل بالمركز الأنيوني كلما كان أفضل في القيام بوظيفته :



وتعتمد فاعلية جزيئي المنشط على :

- أ- نوع المنشط فجزيئي المنشط (2-Paralidoxime : 2-PAM) أقوى ٣٠٠٠٠٠٠ مره قدر جزيئي المنشط (3-Paralidoxime : 3-PAM) وتبلغ قوة الأخيره ضعف المنشط (4-Paralidoxime : 4-PAM)



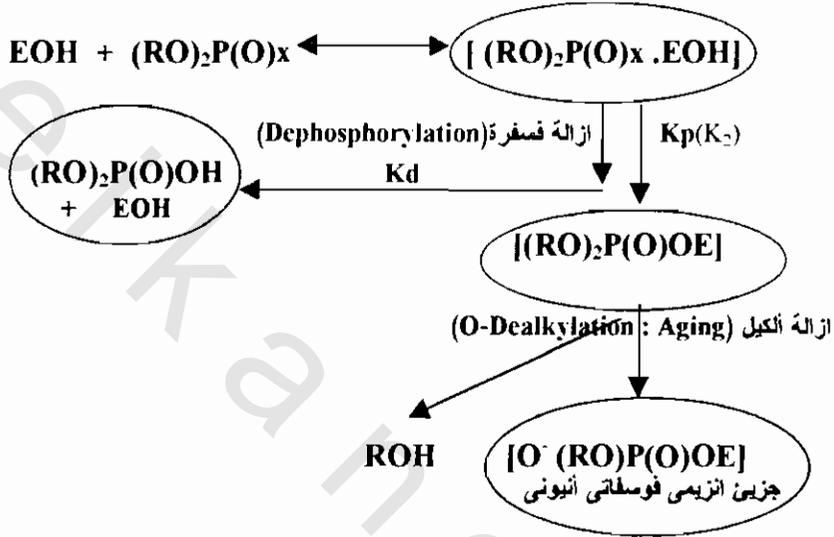
كذلك فمركب (TMP4) يعد أقوى منشط فتبلغ قوته ٢٢ مرة قدر (2-PAM) مع الإنزيم المفسفر داى إيثيل فوسفوريل أسيتيل كولين لوجود القنطرة الداخلية المحتوية على ثلاث مجاميع ميثيلين لكنه غير آمن .
كذلك تعد الأوكسيمات أكثر فاعلية عن الهيدروكسامات . وقد تدخل ذرات أو مجاميع مختلفة على ذرة النيتروجين فى مركب (2-PAM): فتؤدى لعدة مماكنات هي :

- 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)
- داى أسيتيل مونوأكسيم (DiAcetyl Monoxime :DAM)
- مونو نيتروز أسيتون (Mono Nitrose Acetone : MINA)

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

وتتنافس هذه المنشطات أولا مع جزئيات المركب السام التى مازالت حرة ولم ترتبط بسطح الإنزيم فتمنع بذلك إستمرارية زيادة نسبة جزئياته من الإرتباط ثم تتنافس بعد ذلك باقى جزئياته على الإرتباط بجزئيات السم العالقة والمثبتة على سطح الأنزيم محاولة تحرير وتخليص جزئى الإنزيم منها عن طريق قوة النيوكليوفيليه لها بذرة الأكسجين المتصلة بالنيتروجين و بالتالى يحتوى جزئى السم وتغير حوالى ٨٠% من النشاط الإنزيمى المثبط فى أقل من دقيقة . ويلاحظ أن زيادة تركيزها عن ١٠⁻ 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 تنشيطه وهو ما يرجع لحدوث الفسفرة لحلقة الإيمدازول القاعدية بالحمض الأمينى هسـتدين بسطح الإنزيم ثم يهاجر باقى شق جزئى السم لمجموعة هيدروكسيل حمض

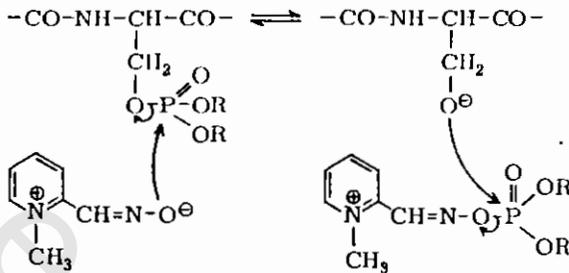
السرير بالمركز الإستراتي بالإنزيم ليكون صورة ثابتة لا تتحلل ولكن حديثا
 يميل التفسير إلى أن مجموعة هيدروكسيل حمض السرير المفسر بجزيئي
 السم تزال منه مجموعة ألكيل أو تمثل ويكون الجزيئي الفوسفاتي الأنيوني
 الناتج ، شكل رقم (١-١٣) غير حساس للمنشط النيوكليوفيلي أي يتحول
 لصورة خاملة بالنسبة لجزيئي المنشط لا تسترجع (Not recovered) .



شكل رقم (١-١٣) : مسار تكوين المشتق الفوسفاتي الأنيوني الغير حساس
 للمنشط

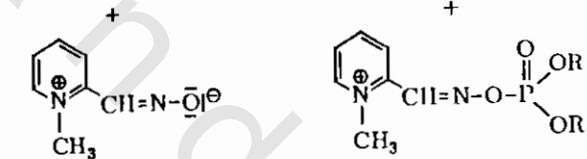
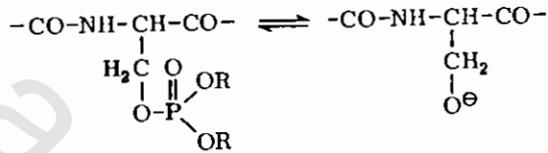
- حيث يعتمد ثابت معدل إزالة الفسفرة (k_2) أي ثابت التثبيط على:
- الأنزيم
 - المثبط
- وليس على المجموعة التاركة حيث تزال قبل هذه الخطوة : أي
 الخطوة ذات الثابت (K_2) وعليه فان :

ثابت معدل التنشيط $K_a / K_2 = (K_i)$
 أى جهد التنشيط والمقاس بواسطته الثابت (k_3) يكون نتيجة الموازنة العاليه
 و الفسفرة (K_p) .

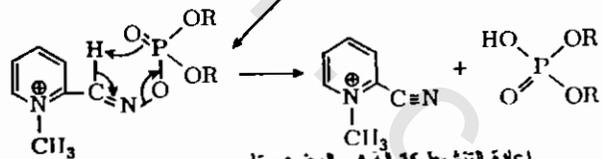


إعادة التنشيط والأكسلة
Reactivation and re-acylation by PAM

Primary step: الخطوة الأولية



Secondary step: الخطوة الثانوية

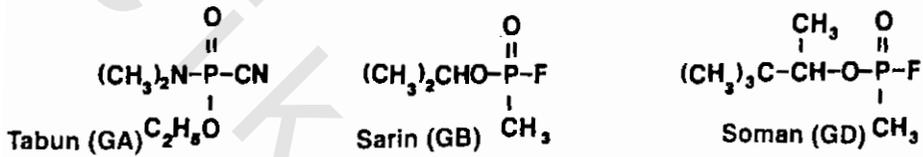


إعادة التنشيط كإزالة في الوضع بيتا
Reactivation as β -elimination

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

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

- أ- مجموعات الألكيل المعلقة بذرة الفوسفور بنواة الفوسفات
 ب- نوع الإنزيم المثبط : فجزئيات السموم الفوسفاتية تعط فشلاً ثابتاً (Instant aging) لإنزيم الأسيتيل كولين فى يوفين كرات دم البقر المثبطة بغازات الأعصاب كالسرلين (Sarine : Pinacolyl m. phosphoryl fluoride) ففترة نصف حياه فشله هي ٢,٣ دقيقه / ٣٧ م



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 الإنزيم .
 ب- إستعادة نشاط وفاعلية الإنزيم بواسطة (2-PAM) (ولا توجد طريقته فعالة للحشرات فالضرر يكون فى العقد العصبية بالجهاز العصبى المركزى ذو الطبيعة الليبوفيلية فى حين المواد المنشطة و الأتروبين مواد أيونية وقابلة للتأين (Ionic or Ionizable) تتفد 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 أيونية موصله (Ion conducting) أو فى صورة وضع مفتوح (an open configuration) فيقاوم الأتروبين الفعل المثير للأسيتيل كولين و

يعوض إنفراد مستويات أخرى من الأسيثيل كولين نتيجة تثبيط الإنزيم (يلاحظ انه عند الحق بالأتروبين يكون مستقبل الأتروبين معقد ولا يفتح) شكل رقم (١٣-٣)

وهنا يجب الإشارة لوجود نوعين من مستقبلات الأسيثيل كولين :

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

ب- مستقبل أسيثيل كولين مسكريني : ويوجد بمناطق إتصال الأعصاب مع الغدد والعضلات الناعمة حيث للأتروبين ميل عالي نحو هذا المستقبل فيسطر على الأعراض المتضمنة زيادة العاب و التدميع والبول وضيق الحدقة و ربما تأثيرات مركزية بالجهاز التنفسي والمخ والمتضمنة تنش عضلى بالعضلات الهيكلية وشلل .

و الأتروبين (ذره نيتروجين رباعية قاعدية ثابت تفككها ٩,٣ و بالتالى فعند تركيز أس أيون هيدروجين نجد أن نصف عدد جزيئاته متأيّنه ، أما عند أس أيون هيدروجين يساوى ٧ نجد أن ٩٨,٨ % أى يكون معظمه متأيّن عند أس تركيز أيون هيدروجين فسيولوجي حيث تنفذ الصورة المتأيّنه ببطيء شديد للمخ ومخزون الصورة المتأيّنه بالدم تغير الأتزان وتعطى صورة غير متأيّنة أكثر وفي 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 النيكوتينية فان استخدامهما معا لعلاج التسمم يكون أفضل عما لو أستخدم أيهما بمفرده أى أن العلاج يستخدم: ترياق (Antidotes) كولوني (Cholinolytic) :لسد المستقبلات الكولونية فى

الطرف البعد شبكى فتخلق حاجز لفعول السم عليها فتمنع تراكم الأسيثيل
كولين المنفرد تحت تأثير فعل هذه السموم .