الباب السادس عشر

العوامل المؤثرة على معدلات الكربمة

obeikandl.com

obeikandl.com

العوامل المؤثرة على معدلات الكربمة
(Factors affecting Carbamylation)

ومن الوجهة الخاصة بالشلل (Parallelism) والتى أدت لمقارنات بين السموم الفوسفورية والكرباماتية العضوية من حيث تثبيطها للإنزيم مما يجعلنا نتوقع بأن خطوة الكربمة (Carbamylation step) والتى يمثلها ثابت معدل التفاعل (K_2) سوف يكون لها نفس الحساسية للخواص الإليكتروفيلية للإستبدلات كما في حالة الفوسفات وهذه الظاهرة درست بغزارة فى مركبات الفينيل كربامات .

وبالرغم من الحقيقة والتى تتصل بالإستبدالات الإليكتروفيلية فى حلقة الفينيل تزيد من التحلل المائى القلوى فى الإتجاه المتوقع فن قيم الكربمة (K_2) للمثيل كرباميت تظهر علاقة موجبة بين ثابت هامت (δ) والثابت ثنائى الجزئى (Ki) و بالتالى ثابت معدل الكربمة (K_2) لأن :

$(Ki) = Kd / K_2$ فى التجارب القصيرة والثابت Kd يكون ثابت .

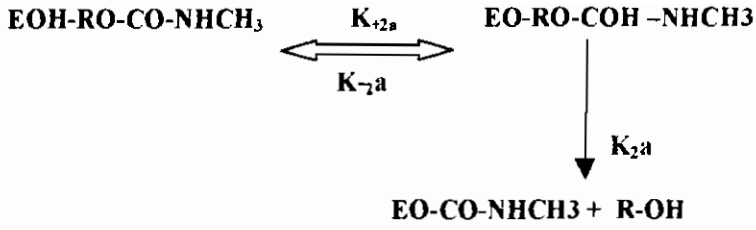
وكان معامل الإرتباط ٠,٧٨ وكان بين التحلل المائى القلوى والثابت (Ki) هو ٠,٨٧

وبالرغم من عدم الوضوح من حيث صفة عدم الحساسية للثابت K_2 للميثيل كاربامات إلى تأثير هامت (δ) حيث كان هناك شك بأن التفاعل الكلى بين الفينيل ميثيل كربامات والإنزيم يماثل تماما مثيله مع مجموعة الهيدروكسيل (OH^-)

والتوقع الوحيد المقدم لشرح البارادوكس (Paradox) والذى تم إستنباطه من موقف مماثل فى التحليل المائى للاستيانيليد (Acetanilide) وأفترض أن التفاعل الكامل لثابت الكربمة (K_2) يتقدم خلال خطوتين :

الاولى : بإعتماد موجب على ثابت هامت (δ)

الثانى : بإعتماد سالب عندما تكون (R) مجموعة فينيل .



$$EOH\text{-}RO\text{-}CO\text{-}NHCH_3 \underset{K_{-2}a}{\overset{K_{+2a}}{\Longleftrightarrow}} EO\text{-}RO\text{-}COH\text{-}NHCH3$$

$$\downarrow K_2a$$

$$EO\text{-}CO\text{-}NHCH3 + R\text{-}OH$$

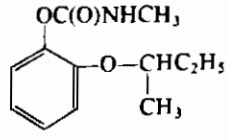
والفرق بين مركبات الميثيل كرباماات والداى ميثيل كرباماات يكون فى كون المتكون المتحلل أكثر سرعة فى مركبات الميثيل عن الإيثيل ، فنسبة المعدلات تبلغ ٢× ١٠ ٦ فى بعض الحالات خاصة لأن الميكانيكية الخاصة فى الميثيل كرباماات تتضمن إزالة بروتون من المجموعة ($NHCH_3$)- وتكسر إلى مجموعة ميثيل أيسوسيانات وهذا التسهل يمكن و أن يحدث فى التفاعل مع الأستيل كولين استيريز .

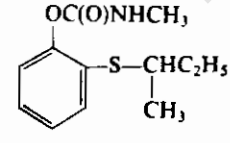
كذلك تظهر علاقة واضحة بين الشكل والحجم والوزن الجزيئى للمركب السام وعلاقة ذلك بالفاعلية البيولوجية (درجة السمية) حيث تتيح فرصة دخول الجزيئى السام وإنتقاله حتى مكان التأثير بالمستقبل البيوكيميائى او الحيوى .

وغالبا ما تظهر الفاعلية العالية مع الحلقات العطرية مما يشير بجلاء لأهمية تفاعل إرتباط هذه الحلقات وسطح المستقبل الحيوى ، فنجد أن فاعلية مركب :

فينيل أيزو بروبيل -ن- ميثيل كاربامات تعادل ١٠٠٠ مرة قدر شبيهه المركب أيزو بروبيل سيكلوهكسيل - ن- ميثيل كربامات :

obeikandl.com





كذلك لحجم ومكان الإستبدال بالحلقة تأثيره الملحـــوظ علـــى الفاعليـــة البيولوجية فعند إستبدال هيدروجين فينيل - ن - ميثيل كربامات والإستبدالات التالية لها علاقة كبيرة مع زيادة قوى فان درفالس (Van der walls) خاصـــة بالوضع أورثو ، جدول رقم (١٦-١) .

جدول رقم (١٦-١) :تأثير الإستبدالات المختلفة (حجم ومكان الإستبدال) والوزن الجزيئى لجزيئى السم على الفاعلية البيولوجية (السمية) :

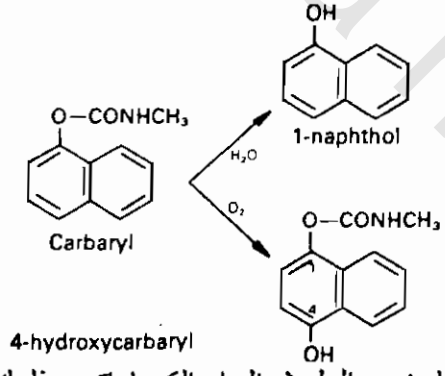
المركب ومكان الاستبدال	pI_{50}	الموائمـــــة (Ka)	LD_{50}
المركب بدون إستبدال	١٠×٢^{-٤}	١	٥٠٠
أورثو - فلورو	$١٠\times١,٦^{-٥}$	١٢	٢٥٠
أورثو - كلورو	$١٠\times٥,٠^{-٦}$	٤٠	٧٥
أورثو - برومو	$١٠\times٢,٢^{-٦}$	٩١	٦٠
أورثو - يودو	$١٠\times٨,٠^{-٧}$	٢٠٠	٩٠

كذلك تزداد السمية للجزيئى السام الكربامیتى بزيـــادة حجـــم المجموعـــة المستبدلة على النواة العطرية ن- ميثيل كربـــاميت حيـــث كـــانت الســـمية بالبيوتيل (ثانوى) أكثر من الأيزو بروبيل = ترت - بيوتيل > الإيثيـــل > الميثيل ، ى تزداد الفاعلية البيولوجية (قوة المناهضة وتثبيط الإنزيم) بزيـادة طول السلسلة حتى البيوتيل ثم تقل بعد ذلك بزياتها .

كذلك تزداد سمية الجزيئى تبعا لمكان وضع المجموعة المستبدلة بالحلقة :

فالوضع ميتا (حيث تكون المسافة بين المركزين الفعالين هى ٥ أنجستروم

كذلك تزداد أيضا سمية الجزيئى الكرباماتى بالإستبدال الغير محب للدهون (Lipophobic) ، فالإستبدال المحب للدهون (Lipophilic) لا يزيد فاعلية الإرتباط لزيادة حجم الإستبدال وتجاوزه عن الجهد المطلوب للتشبع بل تقل السمية ، ولزيادة السمية وتنشيطها يكون بإستبدال ألفا- ألكيل على كحول البروبانول كما بمركب الكاربارايل :



كذلك تؤدى زيادة الوزن الجزيئى لجزيئ الملوث السام الكرباماتى وذلك من خلال الإستبدال إلي إختلاف وتفاوت درجة السمية ونوعيتها وهو ما يتضح من الجدول التالى رقم (١٦-٢) مع مركب الكربوفيوران (Carbofuran) :

جدول رقم (١٧-٢) : تأثير الاستبدالات بمركب الكربوفيوران من حيث تأثير الوزن الجزيئى على مستوى السمية

الإستبدالات محل ذرة هيدروجين مركب كاربوفيوران	LD_{50} للذبـــاب بـــالفم (ميكروجرام/حجم)	LD_{50} للفئران (ملليج/كج)
ثيو فينيل (S-phenyl)	٣,٧	٥٠-٢٥
فينيل	٤,٠ ①	٢٠ ②
بارا ميثوكسي ميتا-ثيو فينول(p-methoxy,m-thioph)	٥,٠	٢٥-١٠
أورثو توليل (o-Tolyl)	٦,٥	١٢٥-١٠٠
ذرة هيدروجين : كاربوفيوران (Carbofuran)	٦,٧	١٠
بارا-توليل ميتا-ثيو أورثو-ترت-بيوتيل	٩,٠	٧٥-٥٠
٢-كب و ٤- ذيليل(2-S, 4-zylyl)	٩,٠	١٠٠-٥٠
ثيو فينيل(S-phenyl)	٩,٣	٥٠-٢٥ ③
بارا-ثيو توليل (p-S-tolyl)	٩,٧	١٢٥-١٠٠
ثيو إيثيل (S-ethyl)	١٢,٨	١٥-١٠

حيث يشير السهم رقم: (١) الى أتجاه زيادة الفاعلية البيولوجية (السمية) لزيادة نسبة الذوبان فى الدهون (Lipophilic) فتمتص جزيئات السم سريعا بالجسم .

فى حين يشير السهم رقم (٢) لأتجاه إنخفاض السمية بالنسبة للثدييات (الفئران) وذلك لسرعة تمثيل السم بالجسم (Metabolism) .

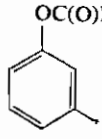
أما السهم رقم (٣) فيشيرإلي إرتفاع درجة السمية نتيجة صعوبة تمثيل جزيئات السم بالجسم .

كذلك فقد أوضح ميتكالف وفوكوتو Metealf & Fukuto تأثير الإستبدالات فى مركب ألكيل -ن-ميثيل كربامات (Alkyl (R) - n - methyl Carbamate) والتى تتوافق وزيادة حجم مجموعة الألكيل الأستبدالة ، جدول رقم (١٦-٣) ، حيث كانت فاعلية البيوتيل (الثانوى) أكثر من الأيزو بروبيل والذى يتساوى مع ترت - بيوتيل وكلاهما أكثر سمية عن الإيثيل فالميثيل وهو ما يعزى تأثيره أساسا إلى قوى فان درفالس :

جدول رقم (١٧-٣) : تأثير الإستبدالات علي مركب الكيل ر - ن-ميثيل كربامات :

ر – ن-ميثيل كرباميت	I_{50}	الموائمة (ka)
المركب بدون إستبدال	٢ ×١٠ $^{-٤}$	١,٠٠٠
O-CH_3	١,٤×١٠ $^{-٥}$	١,٤٠٠
O-C_2H_5	١,٣×١٠ $^{-١٦}$	١,٥٠٠
O-iso-propyl	٦ ×١٠ $^{-١٦}$	٣٣,٠٠٠
O-sec. Butyl	١,١×١٠ $^{-٦}$	٠,١٨٠
m– CH_3	١,٤×١٠ $^{-٥}$	١٤,٠٠٠
m-C_2H_5	٤,٨×١٠ $^{-٦}$	٤٢,٠٠٠
m-iso propyl	٣,٤×١٠ $^{-٧}$	٥٩٠,٠٠٠
m-sec . butyl	١,٦×١٠ $^{-٧}$	٠,١٢٥
P-CH_3	١ ×١٠ $^{-٤}$	٢,٠٠٠
P-C_2H_5	٣,٨×١٠ $^{-٥}$	٥,٣٠٠
P-iso propyl	٧ ×١٠ $^{-٥}$	٢,٩٠٠
P- sec C_4H_9	١,٨×١٠ $^{-٦}$	١١٠,٠٠٠

كذلك لوحظ أن درجة السمية تختلف تبعا لنوع ومكان الإحلال في الجزء الإضافى حيث تغير بعض الشيء من درجة السمية ، جدول رقم (١٦-٤)



جدول رقم (١٦-٤) : تأثير موضع الإحلال بالجزء الإضافى على نواة الكربامتية ® :

التغير فى المجموعة ®	I_{50}	2^{nd}_ Const Hydrolysis مول$^{-١}$ ملل$^{-١}$
أورثو – كلورو	٥ ×١٠ $^{-٦}$	٢٠٠٠
ميتا – كلورو	٥ ×١٠ $^{-٥}$	١٧٠٠
بارا – كلورو	٢,٤×١٠ $^{-٥}$	١٠٠٠
أورثو– كلورو	٨ ×١٠ $^{-٤}$	٣٠٠
ميتا – كلورو	١ ×١٠ $^{-٤}$	٢٥٠
هيدروجين (المركب الاصلى)	٢ ×١٠ $^{-٤}$	٢٤٠
أورثو – ترت– بيوتيل	٦ ×١٠ $^{-٦}$	٢٨
ميتا – ترت – بيوتيل	٦ ×١٠ $^{-٧}$	٤٠

حيث يلاحظ من الجدول ما يلى :

١-يعطى الوضع ميتا ألكيل أقصى سمية حيث المسافة بين كربون نواة الكربامات وكربون الألكيل ٤,٢ أنجستروم (وهى نفس المسافة بين الموقعين النشطين بالإنزيم) وتقل السمية بالوضع أورثو ثم الوضع بارا على الترتيب .

٢-الوضع بارا أنسب وضع لذرة الكبريت (كبيرة الحجم) خاصة عندما تتأكسد فالبرغم من إزدياد المسافة فى الوضع بارا إلا أن ذلك يسهل الإرتباط بالإنزيم ، أى أن شكل الجزيئى هو الأساس فى الإرتباط ، وتزداد المناهضة بزيادة حجم مجموعة الألكيل ويعزى ذلك لزيادة مقدرة الجزيئى على تثبيت نفسه جيدا بسطح الإنزيم .

٣-تزداد السمية عند وجود إستبدالين بالموضع ميتا حيث تعطى فرصة أكبر للإرتباط والتثبيت الجيد (أورثو داى أو تراى ميثيل) .

٤-تتقارب نتائج السمية للسلاسل المستقيمة والمتفرعة عند تساوى عدد ذرات الكربون بهما .

٥-الوضع أورثو يعطى سمية أقل لمجموعة الألكوكسى ثم يلية الوضع ميتا ثم الوضع بارا

٦-إستبدال المجموعة (R) بالإستبدالات التالية يكون ترتيب السمية بها كما يلى :

$$NO < CL < CH_3 < C_2H_5 < iso\text{-}C_3H_7 < C_4H_9 < -N(CH_3)_3$$

حيث تكمن قوة الإستبدال الأول فى الشحنة الموجبة على ذرة النتروجين ($I_{50} = ١٠^{-٨}$) لذا فهو سام للثدييات فقط وغير سام للافقريات (كالحشرات) فهذه الشحنة تعوق عملية النفاذية والتخلل خاصة بالحشرات

والإحلال لذرة الهالوجين يزيد من مناهضة الإنزيم كما يظهر بالترتيب التالى :

أورثو > ميتا > بارا

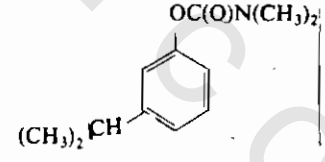
أما بالنسبة لنوع الهالوجين فتكون قوة المناهضة كما بالترتيب التالى :
الفلور > الكلور > البروم > اليود
(تبعا للزيادة فى القطر الذرى والحجم فى الفراغ)

ويعد تغير الكثافة الإليكترونية (بتغير تركيب الجزيئى) حول ذرة كربون نواة الكربامیك دورها الفعال فزيادة الكثافة الإليكترونية تقل معها فرصة تكوين رابطة الهيدروكسيل بمجموعة السرين بالموقع الإستراتى بالإنزيم وهو ما يتضح من الجدول التالى رقم (١٦-٥) .

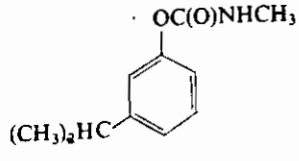
جدول رقم (١٦-٥):تأثير زيادة الكثافة الإليكترونية على ذرة الكربون وقوة المناهضة للانزيم .

المجموعة	I_{50}	الأستيل كولين
$-CO-NH\ CH_3$	$١٠\times٣,٤^{-٧}$	١
$-CO-N(CH_3)_2$	١٠×٥^{-٥}	١
$-CO-NH\ C_2H_5$	١٠×٤٦^{-٧}	٢٥٠٦
$-CO-N(C_2H_5)_2$	١٠×٢^{-٥}	٥٠
$-CO-NH\ CH_2C_6H_5$	١٠×١^{-٣}	١

وغالبا ما تكون مشتقات حمض الكربامیك مناهضات للإنزيم لقوة سحبها لإلكترونات ذرة النيتروجين والتى تخلق شحنة موجبة جزيئية (Partial Possitive Charge) على ذرة الكربون فتسهل إرتباطها بهيدروكسيل السيرين .



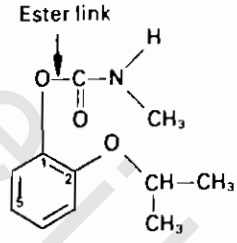
مثبط ضعيف المناهضة للإنزيم



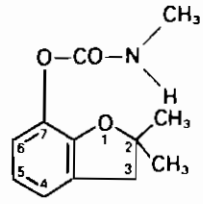
مثبط قوى المناهضة للإنزيم

أما عند إستبدال حلقة البنزين المسطحة بحلقة سيكلوهكسان : الكرسى (Chair) يقل النشاط السام لتلاشى الجذب (π − π hydrophobics) بين حلقة الفينيل بالميثيل كربامات والموقع الأنيونى بالإنزيم .

كذلك فوجود رابطة الميثيلين بالحلقة كما فى مركب البيجون (Baygon) يقلل من النشاط السام لإنخفاض نشاط مجموعة الكربوكسيل علاوة على التغير فى شكل الجزيئى وهو ما يقلل من مناهضة الإنزيم .



Propoxur



Carbofuran

أيضا يؤدى تغير رابطة الإستر كاربامات إلى رابطة ثيول (C (O) – S) أو إلى رابطة ثيونو (C(S) O) أو إلى داى ثيو (C (S) S -) يقلل من النشاط السام المناهض للانزيم .

كذلك فالمركبات الحلقية غير المتجانسة فى صورة داى ميثيل و المركبات ذات حلقة الفينيل أو استبدالها بأحادية الميثيل تقل المناهضة للإنزيم وذلك لأن الفينيل كاربامات أحادى الميثيل أكثر موائمة للموقع الإستراتى بسطح الإنزيم وأكثر كفاءة فى إحدث الكربمة لمجموعة هيدروكسيل حمض السرين بسطح الإنزيم .

أما إستبدال مجموعة ن- ميثيل لمجموعة ن- إيثيل أو ن- فينيل أو ن- نتريل تؤدي إلي إنخفاض النشاط المثبط نتيجة نقص درجة الموائمة بين الجزيئى الناتج وسطح جزيئى الإنزيم .

$$C_6H_5-CH_2 < C_6H_6 < C_2H_5 < CH_3$$

ولهذا مركبات الكاربامات الغير مستبدل بها ذرات هيدروجين ($- CO-NH_2$) ليس لها صفة مناهضة الإنزيم ولتحللها السريع وكلما حدث إستبدال كلما زادت السمية وإنخفض معدل التحلل .

إستعادة :إستشفاء الإنزيم بعد عملية التثبيط :

يحدث الإستشفاء السريع للإنزيم بعد عملية التثبيط لأن خطوة إزالة الكربمة (Decarbamylation step) والتى يمثلها معدل ثابت التفاعل (K_3) أسرع نسبيا من مثيلتها فى حالة السموم الفوسفورية العضوية.

وعليه يعتمد معدل سرعة التفاعل على طبيعة جزيئى نواة الكربامات (ميثيل كربامات غالبا أو داى ميثيل كربامات) وكذلك على نوع الإنزيم ولكنه لا يتفاوت كثيرا ففترة نصف الحياة للميثيل كربامات لإنزيم الأسيتيل كولين استيريز فى :

فكانت بكرات الدم الحمراء (بوفين) / pH ٧ / ٣٨ م : ١٩ دقيقة
و كانت بمخ الذباب المنزلى / pH ٨ / ٣٨ م : ٢٤ دقيقة
و كانت بمخ نحل العسل / pH ٨ / ٣٨م :٢٦ دقيقة
و كانت بمخ حشرة الناز / pH ٨ / ٣٨م :٣٨ دقيقة

بينما كانت فترة نصف الحياة للميثيل كربامات بالنسبة إلي :

إنزيم البيوتريل كولين بسيرم الحصان ٣,٦ساعة
إنزيم البيوتريل كولين بسيرم الإنسان ٣ سنه

وهو ما يشير بوضوح لتفاوت درجة السمية بالنسبة لنوع الإنزيم وبالتالى تفاوت معدل إستعادة الإنزيم لنشاطه مرة أخرى .

أما فترة نصف الحياة للداى ميثيل كربامات للأستيل كولين فى :

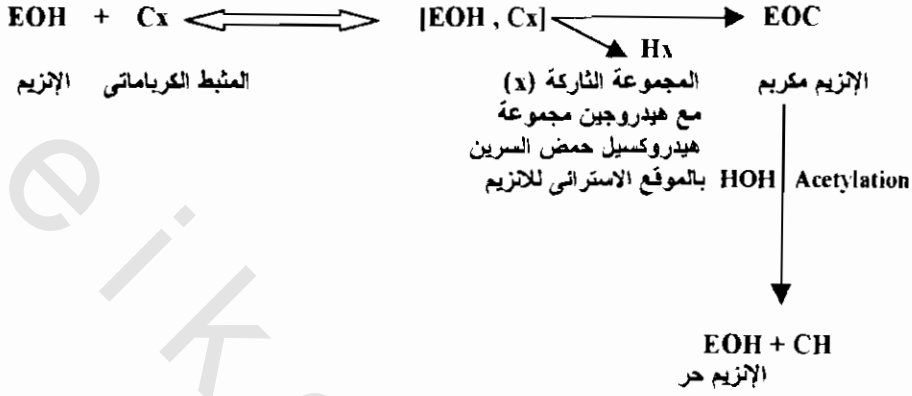
كرات الدم الحمراء (بوفين) / PH=٨/٢٥م ٥٦ دقيقة
بحشرة النار / PH=٧/٢٥م ٢٧ دقيقة
رأس الذباب / PH=٨/٢٥م ٢٤٠ دقيقة

بينما كانت فترة نصف الحياة للداى ميثيل كربامات لإنزيم البيوتريل كولين استيريز فى

سيرم دم الحصان / PH = ٧,٤ / ٢٥م ١٠٢٠ دقيقة
سيرم دم الإنسان / PH = ٧,٤ / ٢٥م ٢١٠ دقيقة

وفى كثير من الحالات فإنه يمكن إسراع خطوة إزالة الكربمة (Decarbamylation) والتى يمثلها معدل ثابت التحلل (K_3) بالمواد الحفازة وهو

ما يمكن تنفيذه ليس فقط خارج الجسم بل داخله (Catalystes) وهى ذات قيمة كمواد علاجية فى حالة التسمم فهذه المواد ذات طبيعة نيوكليوفيلة عالية (High Nucleophlic nature) تلعب دورها بهجومها على ذرة كربون الكربواميل (Carbamyl Carbon) وتستبدل جزيئى الكربواميل بنفسها مع جزئى الإنزيم وهنا تترك نواة المجموعة السامة الكرباماتية جزيئى الإنزيم ليصبح حرا وهو ما يمكن تمثيله بالمعادلة التخطيطية التالية :



تمثيل السموم الكرباماتية بالجسم (Carbamate Metabolism)

وبالأخذ بعين الإعتبار تمثيل السموم الكرباماتية بالحذر الواجب المحافظة عليه ومن وجهة نظر التقدير الخاص بتقنية الهجرة الكهربية لألبيومين السيرم البشرى أحتوى على نشاط إنزيمى (Carbamtase) عند أي معدل من البارانيتروفينيل كاربامات والكاربارايل .

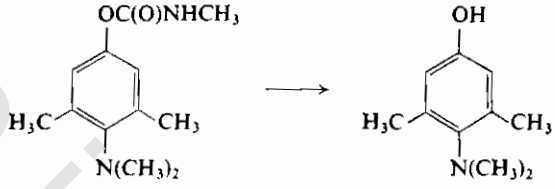
وهذا النشاط فقير فى الإنزيمات المحللة مائيا مثل إنزيم سيرم الكولين استيريز والأليستريز (Alliesterase) والأريل استيريز والكيموتربسين ولذا فمن المحتمل أن إنهيار الكربامات يمكن أن يلامسه بروتينات غير متخصصة وليست إنزيمية بالمعنى الحسى للكلمة ولكن يجب أخذ ذلك فى الإعتبار قبل التقدير بأن بعض الأنسجة تحتوى على إنزيم محلل للكربامات :

obeikandl.com

١ – إزالة الكربمة (Decarbamylation)

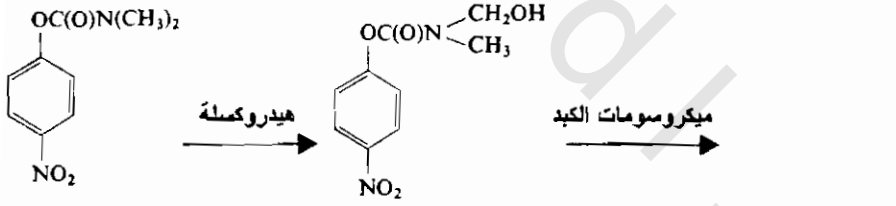
وهى ازالة مجموعة الكرباميك (-CO - NHCH3) من المركب مـــن خـــلال عملية تحليل مائى يلامسها انزيم وهى من اكبر مسارات الهدم للســـموم ذات النواة الكرباماتية

Zectran



٢ – الهيدروكسلة (Hydroxylation)

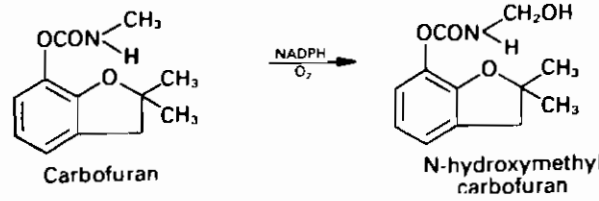
حيث تحدث عملية هيدروكسلة لإحدى مجموعات الميثيل المعلقة على ذرة النيتروجين كما بالمثال التالى :

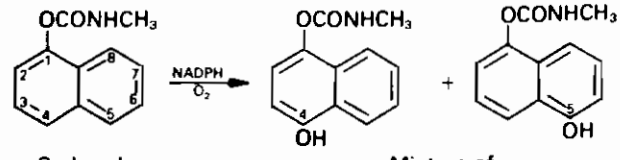


بـــارانيتروفينيل داى ميثيل كربامات — بـــارانيتروفينيل ميثيل كربامات — بارانيتروفينال

ويلاحظ أن مركب البيرونيل بيوتوكسيد أو مركب (SKF525A) وبتركـــيز 10^{-4} مولر يمكنه إعاقة التمثيل الميكروسومى حيث يعملا على زيادة تنشـــيط الفاعلية البيولوجية للجزيئى (السمية) .

obeikandi.com





كذلك بجانب المركبين السابقين وجد المركبات التالية لها خاصة تنشيط الفاعلية البيولوجية من خلال إعاقة التمثيل الميكروسومى وهى :

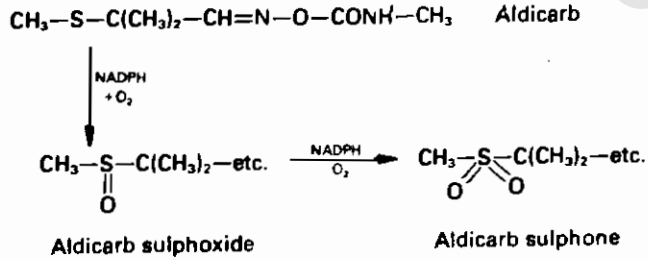
١-**مركب SKF525 – A**: ٢ - داى ايثيل امينو ايثيل - ٢,٢ - داى فينيل فاليرات

٢-**مركب MGK 28**: ن-(٢- ايثيل هكسيل) -٥-يوريوثين - ٣,٢ داى كربوكسى ايميد

٣-**مركب Lilly 18947**: ٢-(٥,٣ - داى كلورو -٢ - بيفينيل أوكسى) ايثيل داى ايثيل أمين

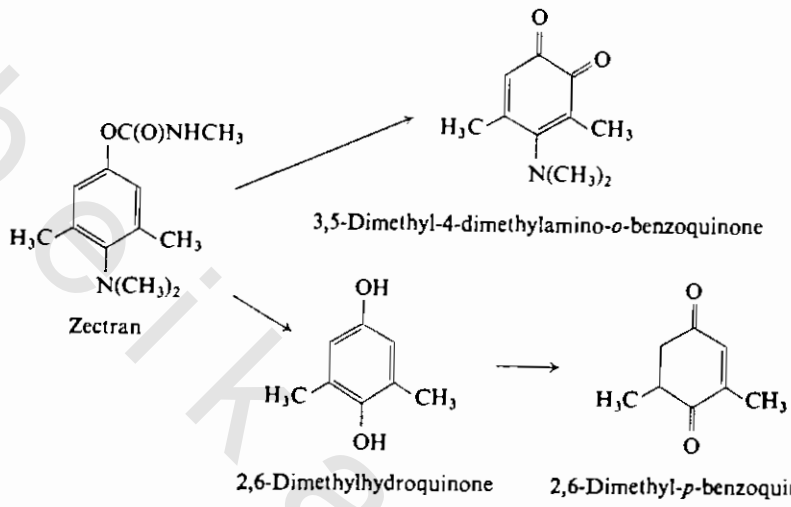
٣-أكسدة كبريت السلسلة الجانبية (Oxidation of side chain Sulfur)

و فيها تتم أكسدة كبريت السلسلة الجانبية لنواة المركب إلي المشتق التأكسدي الأول : سلفوكسيد وبأستمرار الأكسدة يتحول إلي المشتق التأكسدي الثاني : سلفون و خلال ذلك تزداد السمية تدريجيا وتتفاوت الأختيارية وفي نفس الوقت تقل درجة الثبات تدريجيا :



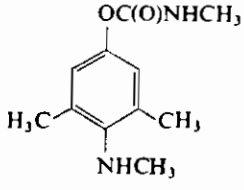
٤-الأكسدة (Oxidation):

و هو ما يحدث مع مركب الذكتران حيث يتأكسد إلـــي ٦,٢-داى ميثيـــل هيدروكينون وبزيادة درجة الأكسدة يتحول إلي ٦,٢ - داى ميثيـــل بـــارا-بنزوكينون :

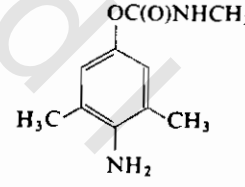


٥- الإختزال (Reduction):

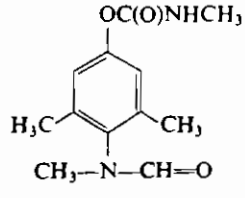
حيث يتم إختزال نواة ذرة النيتروجين إلي مجموعة أمينو أو غلي ميثيـــل أمينو



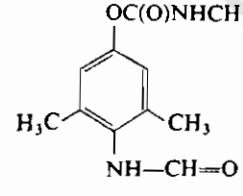
4-Methylamino-3,5-xylyl methylcarbamate



4-Amino-3,5-xylyl methylcarbamate

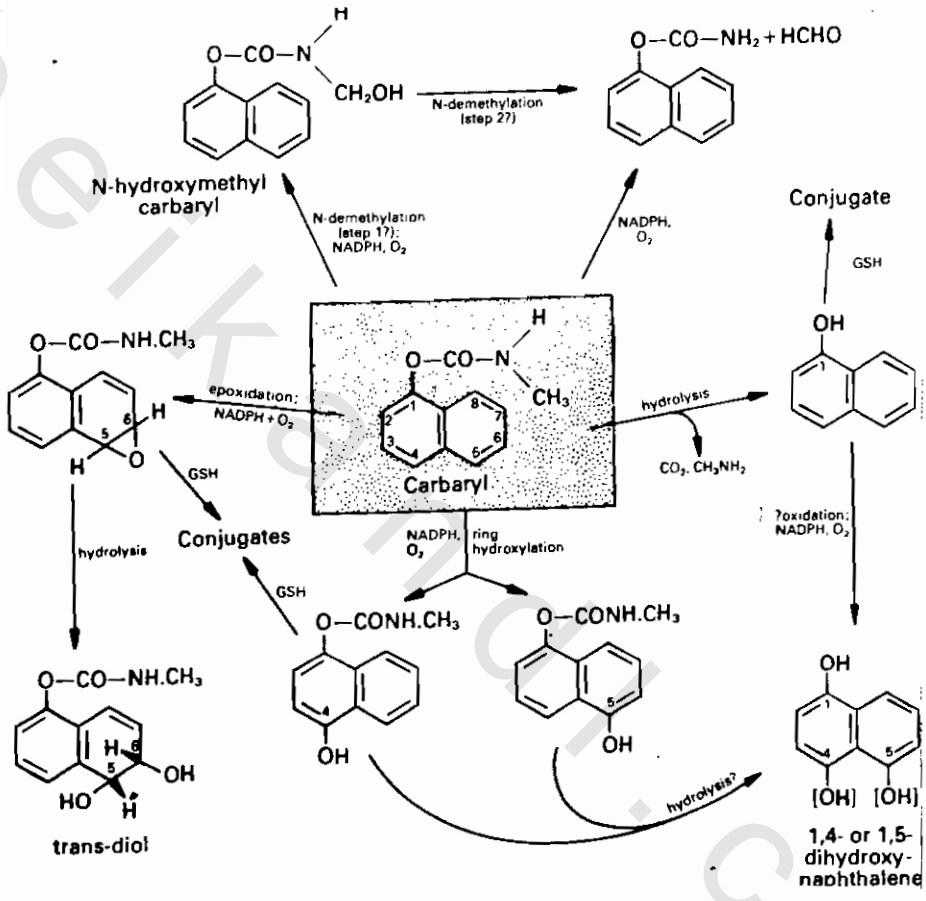


4-Methylformamido-3,5-xylyl methylcarbamate

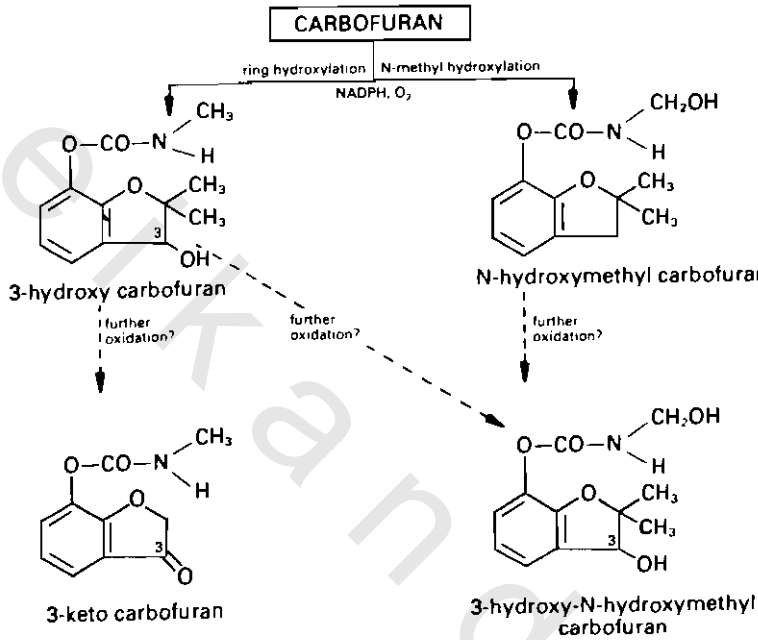


4-Formamido-3,5-xylyl methylcarbamate

والخريطة التالية تمثل مسارات تمثيل مركبي الكاربايل و الكاربوفيوران فـــى الثدييات شكل رقم (١٦-١) و الشكل رقم (١٦-٢) علي الترتيب :



شكل رقم (١٦-١) : مسارات تمثيل مركب الكاربارِيل في الثدييات



شكل رقم (٢-١٦) : مسارات تمثيل مركب الكاربوفيوران