تحضير أحد مشتقات الميتفورمين كدواء مصاحب ودراســـة تأثيره على بعض المتغيرات الكيموحيـوية في أمصال دم الأرانب

فراس شوقي عبدالرزاق
فاضل عبد حرجان الجنابي

قسم الكيمياء / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة تكريت

استلم البحث في:٢١ كانون الاول ٢٠١٤،قبل البحث في ٢٣ شباط ٢٠١٥

الخلاصة

هدفت الدراسة تحضير دواء مصاحب جديد هو الميتفورمين حيث تم ربطه بدواء الاسبرين بوساطة اصره امايدية وتم التأكد من صحة التركيب الكيمياوي باستعمال الطرائق التحليلية والطيفية المتاحة (^{13}C-NMR , ^{1}H-NMR , FTIR ,CHNO) وقد دلت النتائج المستحصلة على صحة التركيب المقترح وتم تنقية المركب المحضر بوساطة تقنية كروموتوغرافيا العمود.
تم اخذ ٤٠ ارنباً ذات اوزان متقاربة وقسمت الى اربع مجاميع(١٠ ارانب لكل مجموعة) وكانت كالآتي:
المجموعة الأولى (G1): (مجموعة السيطرة السليمة) أعطيت ماء الشرب الاعتيادي ولم تعط أية مادة. المجموعة الثانية (G2): (مجموعة السيطرة المصابة) أعطيت بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 0.5 % حتى أصيبت بداء السكري ولم تعط أية مادة. المجموعة الثالثة (G3): أعطيت بيروكسيد الهيدروجين كما في(G2) ثم جرعت المركبين كلا على حدا بجرعة أسبرين بتركيز (٢٥٠ mg/kg) وبجرعة الميتفورمين بتركيز (٣٤٨,٨ mg/kg) المجموعة الرابعة (G4): أعطيت بيروكسيد الهيدروجين كما في(G2) ثم جرعت (٥٩٦,٣ mg/kg) من الدواء المصاحب المقترح وبعد مرور ثلاث ساعات من تجريعها تم سحب عينة الدم من كل ارنب وفصل المصل منها واجريت عليها دراسة للمتغيرات الكيموحيوية والانزيمية.
وقد أظهرت نتائج التحليل الإحصائي انخفاضا معنويا في فعالية كل من انزيم لاكتيت ديهيدروجنيز، كرياتين كاينيز ، وجود انخفاض معنوي بتركيز الكلوكوز و ارتفاع معنوي بتركيز كل من الالبومين، البروتين الكلي، الكلوبيولين بتأثير المركب المحضر [A] بالمقارنة مع السيطرة المصابة . وقد أظهرت النتائج انخفاضا معنويا في فعالية الانزيم لاكتيت ديهيدروجنيز و ارتفاع معنوي في فعالية الانزيم كرياتين كاينيز ، واظهرت الدراسة وجود ارتفاعا معنويا بتركيز كل من الكلوكوز، الالبومين، البروتين الكلي، الكلوبيولين بتأثير المركب المحضر [A] وبالمقارنة مع السيطرة السليمة.

الكلمات المفتاحية: داء السكري ، الاسبرين ، الميتفورمين

المقدمة

داء السكري

يمكن تعريفه بانه حالة مرضية مزمنة ناتجة عن ازدياد مستوى السكر في الدم وذلك يعود الى عوامل وراثية وبيئية كثيرة كما يعود الى النقص المطلق او الجزئي للانسولين (insulin) المفرز من البنكرياس وانخفاض حساسية الأنسجة للأنسولين او كلاهما [1]. **وهناك أنواع من داء السكري وهي:**

١- النمط الأول السكر المعتمد على الأنسولين: وهـومرض يصيب الأطفال والمراهقين و يمكن أن تحدث إصابته في أي عمر ويشكل حوالي (٥ – ١٠%)من كل الحالات المشخصة ، و يتسبب عن استمرار تحطيم المناعة الذاتية لخلايا بيتا البنكرياسية في جزر لانكرهانز [2] . ويعالج بصورة أساسية حتى أثناء المراحل الأولى بحقن الأنسولين مع المراقبة المستمرة لمستويات الكلوكوز بالدم، ويمكن أن يصاب المريض الذي لا يتعاطى الأنسولين بالحامض الكيتوني (Acido ketosis) الذي يؤدي إلى الغيبوبة أو الوفاة [3].

٢- النمط الثاني غير المعتمد على الأنسولين: إن هذا النمط هو الشائع ويشكل حوالي (90 %) من مجموع حالات الإصابة، وغالباً ما يكون متصاحباً مع البدانة المركزية وكذلك مع مخاطر الأوعية القلبية مثل: ارتفاع ضغط الدم [2]

٣- سكري الحمل: يظهر على النساء الحوامل أثناء مدة الحمل ويتراوح المرض من (١-١٤%) لكل حامل **و هناك نوعان من سكر الحمل** :

A- سكر الحمل: ويظهر هذا النوع اثناء الحمل فقط في النساء اللواتي لم يصبن بالمرض نفسه سابقاً ويعود سكر الكلوكوز الى معدلاته الطبيعية بعد الولادة وهو من الأنواع الأقل انتشاراً [4] .

B- مرض السكر مع الحمل: في هذا النوع يحدث الحمل لمريضة مصابة بداء السكري أو ان تكتشف الإصابة به أثناء الحمل ولا ينتهي مع نهاية الحمل ، ويعود الفائض من السكر في دم الام الى الطفل وبعد الولادة يؤدي الى خطر الإصابة بارتفاع السكر في دمه . يعالج سكر الحمل سواء كانت الحامل مصابة بالنمط الاول او الثاني بالانسولين [4].

تشخيص مرض السكري

وجود أعراض مرض السكر مثل (التبول ، فرط العطش، شرب الماء) عندما يكون مستوى السكر في الدم وبأي وقت أكثرمن أو يعادل ٢٠٠ ملغم/ ديسليتر أو 11.1 ملي مول/ لتر من الدم.**او** ان يكون مستوى السكر في دم المريض الصائم ٨ ساعات على الأقل بدون طعام أعلى من أو يعادل ١٢٦ ملغم/ ديسليتر أو ٧ ملي مول/ لتر من الدم .**او** يكون مستوى السكر بعد ساعتين من اختبار تحمل الكلوكوز أكثر من أو يعادل ٢٠٠ ملغم/ ديسليتر أو 11.1 ملي مول/ لتر من الدم [5].

علاج داء السكري: تعد السيطرة على مستوى السكر في الدم هو امر في غاية الاهمية للحفاظ على الصحة العامة و **يتم العلاج عن طريق**:

١ - العلاج بهرمون الانسولين [6].

٢ - العلاج بالأدوية الفموية الخافضة للسكر وتوجد خمسة اصناف من الادوية الفموية التي من الممكن ان تستعمل بمفردها او مع الادوية الفموية الاخرى ، يمكن ان تستعمل مع عقار الانسولين **مثل** (مركبات البايكونايد) [6] .

الميتفورميـن

هو الميتفورمين هيدروكلورايد (glucophage) التركيب الكيميائي له (1,1- dimethyl biguanide hydrochloride) والصيغة الجزيئيـة له ($C_4H_{11}N_5$. HCl) [7] و يكون على شكل بلورات بيضاء وقابل للذوبان في الماء بسهولة وغير قابل للذوبان عمليا في الاسيتون ، الأيثر ، والكلوروفورم و pH لمحلوله المائي هو ٦,٦٨ [8]. ويخفض الميتفورمين من مستوى السكر في الدم من خلال تقليل امتصاص الكلوكوز من جهاز الهضم الى الدم ، تخفيض انتاج الكلوكوز من خلايا الكبد و تعزيز حساسية الخلايا للانسولين ،(Metformin) اصبح متوفرا ايضاً في علاج تكيس المبايـض ويمنع سرطـــان البنكريـــاس[9] . **وتوصل** (Al-Mossawe)[10] من خلال دراسته بان (٧٦,٧٥%) فعالية دوائية لعقار (Metformin) فيما اذا استعمل في علاج المبايض المتكيسة . **واكـد** (Al-Jabouri) [11] بان عقار الميتفورمين كان اكثرها فائدة من ناحية التقليل من مخاطر التصلب الشرياني عند مقارنته مع (الروزكميتازون و الاكربوز) عندما تم دراسة العقارات الثلاثة بتاثيرهم على مستويات الدهون في الدم .

واثبت (Ibraheem)[12] بان عقار المتفورمين يؤدي الى ارتفاع مستوى كل من T3 و T4 بعد تناوله ويخفض TSH بشكل واضح ومعنوي وعلية يمكن الاستفادة من استعمال متفورمين في علاج اورام الغدة الدرقية (thyroid cancer) وكذلك في علاج انخفاض مستوى هرمون الدرقية دون السريري .

الأسبريـــــن

الاسبرين هو [2-(acetyloxy) benzoic acid] [13] اطلق الصيادلة الالمان على حامض Acetylsalicylic acid اسم الاسبرين لاول مرة في عام ١٨٩٩[14] يعد الأسبرين من مضادات الالتهابات - غير الستيرويدية المضادة للالتهاب ويرمز لها (NSAIDs) ، وقد أستعمل هذا المصطلح لتميزها عن الأدوية الستيرويدية الأخرى كونها خافضة للألم ومضادة للحمى والالتهاب [15] كما يعد الأسبرين أحد اشهر الأدوية في العالم وأكثرها شعبية عندما انقذ ملايين البشر من الحمى وأنسداد الشرايين والنوبات القلبية والدماغية والالام الروماتيزية ومازال حتى الان يعد علاجاً متميزاً على بدائله مثل الوارفرين المانع لتجلط الدم في المفعول[16] وتأثيره ضد السرطان [17] **.وذكر** (الجميلي)[18] ان تناول قرص أسبرين قبل النوم يفيد مرضى داء السكر لأنه ينشط البنكرياس لإفراز الأنسولين الذي يحول السكر لطاقة ويقلل مقاومة الخلايا و زيادة حساسيتها للأنسولين.

الجزء العملي

الجزء العمـلي العضـــوي

١- **تحضير كلوريد (٢-اسيتوكسي) بنزويل** : أضيف الى مسحوق الحامض الكاربوكسيلي (الاسبرين) (4.00gm) الجاف في دورق دائري (5.00 mL) من كلوريد الثايونيل (Thionyl chloride) يتم التصعيد لمدة ساعة واحدة بوساطة حمام مائي، يزال بعدها المكثف ثم يعرض الى درجة حرارة مقدارها $60C^0$ لمدة 3 دقائق مع التحريك للتخلص من كلوريد الثايونيل الزائد للحصول على الناتج وبمقدار(6.18 gm) وبنسبة مئوية مقدارها (71.37%).

٢- تحضير المركب [A]

[2- ((N-(1-imino-2-methylpropyl)carbamimidoyl)carbamoyl)phenyl acetat]

يذاب (4.01 gm) من المركب الميتفورمين في البيريدين عند درجة حرارة (C^0 -12) ثم يتم إضافة (٦,١٨ gm) على شكل قطرات من كلوريد (٢-اسيتوكسي) بنزويل تدريجيا ، يترك التفاعل مع التحريك لمدة ٢٤ ساعة، وبعدها يستخلص المزيج ثلاث مرات بوساطة الكلوروفورم استخلاص متعدد (3×100 mL) تؤخذ الطبقة العضوية ويغسل المزيج ثلاث مرات بوساطة الماء المقطر (3×100 mL)، ويجفف المحلول بوساطة $MgSO_4$ اللامائي ثم يرشح المحلول ويبخر المذيب للحصول على الناتج النهائي .

تمت تنقية المركب بوساطة كروموتوغرافيا العمود باستخدام المذيبين (كلوروفورم + هكسان -n) وبنسبة (٥:٥) وكانت Rf(0.888) للحصول على الناتج النهائي النقي . تم تشخيص التركيب المقترح الامايد الدوائي المصاحب للاسبرين باستخدام الطرق التحليلية والطيفية المتاحة (FTIR , ^{1}H-NMR , ^{13}C-NMR ,CHNO) **.**

الجزء العملـي الحياتـــي

استعمل محلول بيروكسيد الهيدروجين لاستحداث داء السكري بتركيز **0.5%** ولمدة شهرين . **الحيوانات المستخدمة** اخذ في الدراسة الأرانب المنزلية متقاربة في العمر (الوزن ≤ ٢Kg) حيث تركت لمدة أسبوع في الأقفاص لتستقر، وطبق عليها النظام الغذائي نفسه خلال هذه المدة. **قسمت حيوانات التجربة إلى (4) مجاميع تضم كل مجموعة (10) حيوانات رتبت كالآتي : المجموعة الأولى(G1):** (مجموعة السيطرة السليمة) أعطيت ماء الشرب الاعتيادي ولم تعط أية مادة. **المجموعة الثانية(G2):** (مجموعة السيطرة المصابة) أعطيت بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 0.5% حتى أصيبت بداء السكري ولم تعط أية مادة.**المجموعة الثالثة(G3):** أعطيت بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 0.5% كما في(G2) ثم جرعت المركبين كلا على حدا بجرعة أسبرين بتركيز mg/kg ٢٥٠ وبجرعة الميتفورمين بتركيز mg/kg ٣٤٨,٨ بعد اذابتها بمذيب ثنائي مثيل سلفوكسـايد .**المجموعة الرابعة (G4)**: أعطيت بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 0.5% كما في(G2) ثم جرعت المشتق المحضر بتركيز mg/kg ٥٩٦,٣ مذاب بمذيب ثنائي مثيل سلفوكســايد وبعد مرور ثلاث ساعات من تجريعها تم سحب عينة الدم من كل ارنب وفصل المصل منها واجريت عليها دراسة للمتغيرات الكيموحيوية والانزيمية **وكما يأتي:**

١- تقدير مستوى الكلوكوز في مصل الدم

تم استعمال عدة kit من شركة Plasmatec ويحدد الكلوكوز الموجود في النموذج على أساس تفاعل GOD-POD (Trinder) حسب المعادلات الاتية :

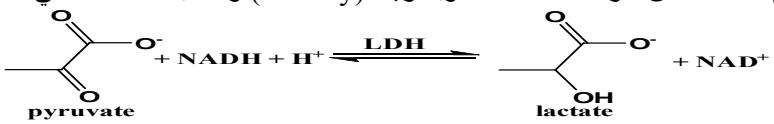
$$\beta\text{- D-Glucose} + O_2 + H_2O \longrightarrow \text{Gluconicacid} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{phenol} + \text{amino phenazone} \rightarrow \text{Quinone} + H_2O$$

تعد طريقة تقدير الكلوكوز طريقة أنزيمية لونية يتم بوساطتها تحديد الكلوكوز بعد أكسدته بوجود كلوكوز أوكسيديز ، وان تركيز الكلوكوز يتناسب مع شدة اللون الوردي وتقاس عند طول موجي 505nm وفق المعادلات السابقة [19].

2- تقدير مستوى فعالية انزيم لاكتيت ديهيدروجنيز

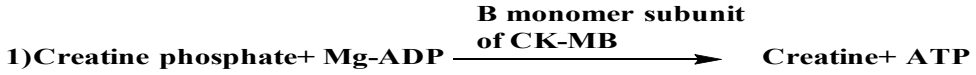
تم تقدير انزيم لاكتيت ديهيدروجنيز باستخدام عدة kit من شركة Biolabo وبطريقة (Henery) وحسب التفاعل الاتي:



ان النقصان الناتج في الامتصاصية يكون بسبب تحول NADH الى NAD^+ وتقاس الفعالية النسبية المباشرة لـ LDH في المصل عند 340 nm [20].

٣- تقدير مستوى فعالية انزيم كرياتين كاينيز

تم تقدير انزيم الكرياتين كاينيز باستعمال عدة kit من شركة Human باستعمال كاشف معدل يحتوي على Polyclonal antibody خاص للمونمر CK-M لذلك يتم التثبيط التام لفعالية CK-MM ونصف من فعالية CK-MB، فقط تقاس فعالية الوحدات الثانوية للمونمر B غير المثبط التي تمثل النصف. وهذه الطريقة تفترض ان فعالية CK-BB في المصل تساوي صفرا ، ومخطط التفاعلات توضح ذلك.



يسبب تحول $NADP^+$ الى NADPH الى زيادة في الامتصاصية التي تقاس عند 340 nm [20].

٤- تقدير مستوى تركيز الألبومين

تم استعمال عدة kit من شركة Biolabo تتضمن هذه الطريقة تفاعل برومو كريسول الأخضر في المحلول المنظم عند (pH=4.2) مع الألبومين لتكوين معقد ملون ، الذي تتناسب شدة لونه مع تركيز الألبومين وبالاعتماد على قياس مقدار امتصاص اللون عند طول موجي (630 nm).

٥- تقدير مستوى تركيز البروتين الكلي

تم استعمال عدة kit من شركة Biolabo تعتمد هذه الطريقة على مفاعلة عينة مصل الدم الحاوية على البروتين مع محلول ترترات البوتاسيوم . النحاسيك القاعدية (ايونات cu^{2+} في محيط قاعدي) الذي يعرف بكشف بايوريت (Biuret Reagent) ليعطي معقدا ذي لون بنفسجي شدة امتصاصه تعتمد على عدد أواصر الببتيد الموجود في البروتين ، إذ تقاس شدة الامتصاص عند طول موجي (550 nm).

٦- تقدير مستوى الكلوبيولين في مصل الدم

تم تقدير مستوى الكلوبيولين في مصل الدم تبعاً للمعادلة الاتية [21].

Con.Globulin = Con.Total protein- Con.Albumin

النتائج والمناقشة

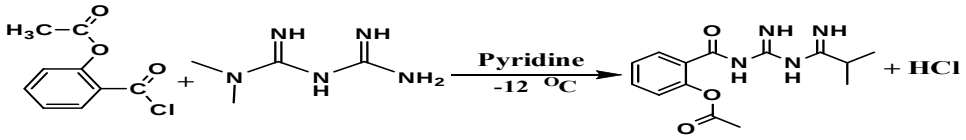
الجزء العضوي تضمن هذا الجزء خطوتين وهما:

١- تحضير كلوريد الاسبرين

تم تحضيره بوساطة مفاعلة الحامض الدوائي (الأسبرين) مع كلوريد الثايونيل ($SOCl_2$) مع التصعيد المعتدل في حمام مائي وبدرجة حرارة (^0C ٩٠) ولمدة ساعة واحدة .حيث استبدلت مجموعة الهيدروكسيل في الحوامض الكاربوكسيلية (للأدوية) بالكلور ليعطي الناتج المطلوب واثنين من النواتج العرضية وهي (SO_2 وHCl) ذوات الخاصية الطيارة التي تزال بسهولة، ان الميكانيكية المقترحة لتكوين كلوريد (٢-اسيتوكسي) بنزويل تتبع التفاعل التالي [22] .

- تحضير الدواء المصاحب الامايد للأسبرين

تم تحضيره من تفاعل المركب الميتفورمين مع كلوريد الاسبرين، بوجود البيريدين عند درجة حرارة (١٢-) مْ مع التحريك المستمر لمدة ٢٤ ساعة ليعطي المركب **[A]** الناتج على شكل (Semisolid) وبنسبة (71.37%) **وحسب التفاعل الآتي :**



تم تشخيص التركيـــب المقترح الامايد الدوائي المصاحـــب للاسبرين باستعمال الطرائق التحليلـية والطيفـــية المتاحة **(FTIR , ^{1}H-NMR , ^{13}C-NMR ,CHNO , TLC).**

TLC ,Rf(0.888)(n- Hexan : chloroform) (5:5); **IR(Film) (cm^{-1}),**1485 (C=C)aromatic, 1606(C=N) azo methene, 1656(C=O) amide,1693(C=O) ester, 2925(C- H)aliphatic, 3045-3080(C-H) aromatic, **^{1}HNMR ,**(1.04)ppm (d ,6H ,2CH_3) ,(1.67)ppm (d,1H,CH), (2.0)ppm (s, 2H,NH), (2.39)ppm (s ,3H,CH_3), (7.34-8.06)ppm (d ,4H ,aromatic) ,(9.62)ppm(s,1H,C=N) **,** **^{13}C-NMR,** (20.3-20.5)ppm (3CH_3) aliphatic, (33.4)ppm (1 C- H)aliphatic,(123-148)ppm (C)aromatic ,(156.7)ppm (C=N) ,(169.2)ppm(C=O).

الشكل (1) يبيـــن طيف FTIR والشكل (2) يبين التحـليل الدقيـــق للعناصرCHNO والشكل (3) يبين طيف ^{1}H-NMR والشكل (4) يبين طيف ^{13}C-NMR للمركب [A].

الجزء الحياتي

1- مقارنة المتغيرات الكيموحيوية (GLU)

تم قياس تأثير المركب المحضر [A] على مستوى تركيز الكلوكوز (GLU) والجدول (1) يوضح مستوى تركيز(GLU) بين المجاميع الاربعة وكذلك يبين المعدل والانحراف القياسي.

بعد استعراض الارقام للمتغير كلوكوز في الجدول (1) لوحظ وجود اختلاف معنوي بين G1, G2, G3, G4 حيث كانت مستويات المجاميع **(**102.35 ± 2.30 **)**mg/dl , (110.08 ± 4.08)mg/dl , (230.80 ± 8.24 **)**mg/dl , 90.35 ± 2.27)mg/dl) على التوالي. لوحظ في الجدول (1) ان مستوى الكلوكوز في (G4) كانت افضل بخفض مستوى الكلوكوز من (G3) وهذا دليل على نجاح الهدف المنشود من تحضير الدواء المصاحب المقترح . وتبين من نتائج الدراسة أن الميتفورمين قد أدى إلى خفض مستوى كلوكوز الدم وهذا يتطابق مع نتائج دراسات (Nicole *et al*)[23] ونتائج (Subhabrata *et al*)[24] ونتائج (Shatha)[25] ونتائج (Sazan *et al*) [26] وقد يعزى بعض الباحثين تأثير المتفورمين المخفض لكلوكوز الدم إلى إمكانية المتفورمين على تقليل المواد الأولية الداخلة في تخليق الكلوكوز من قبل الخلايا الكبدية وتحفيز الخمائر المسؤولة عن أكسدة الكلوكوز[27] . فضلاً عن زيادة حساسية مستقبلات الإنسولين للإنسولين في خلايا الجسم مما يزيد من دخول الكلوكوز إلى هذه الخلايا[28] .

2- مقارنة مستوى فعالية كل من الانزيمات (CK , LDH)

تم قياس تأثيرالمركب المحضر [**A**] على فعالية كل من انزيم كرياتنيين كاينيز (CK) و انزيم اللاكتيت ديهيدروجنيز (LDH) حيث أن الجدول **(2)** يوضح مستوى فعالية(CK , LDH) بين المجاميع الاربعة وكذلك يبين المعدل والانحراف القياسي.

و بعد استعراض الارقام لفعالية انزيم (LDH) في الجدول (٢) لوحظ وجود اختلاف معنوي بين G1, G2, G3, G4 حيث كانت المستويـات المجاميع (215.20 ± 24.43)**U/L** , (228.70 ± 35.68)**U/L** , (399.70 ± 62.66) **U/L** ,(233.33 ± 25.66) **U/L** على التوالي. لوحظ ان المجموعة G4 لها القدرة على التثبيط الانزيم (LDH) اعلى من المجموعة G3 التي تمثل الأدوية الأصلية منفصلة.

وقد يعود سبب انخفاض أنزيم اللاكتيت ديهايدروجينيز(LDH) للدور الأساسي للأنزيم في عملية أكسدة الكلوكوز الذي يعد المصدر الرئيسي للدماغ [29] .

اما فعالية انزيم (CK) في الجدول (٢) لوحظ وجود اختلاف معنوي بين G1, G2, G3, G4 حيث كانت المستويـــــات المجاميع (42.725±4.544)**U/L** , (38.807±3.103)**U/L** , (62.775±3.580)**U/L** , (35.367 ± 2.759) **U/L** على التوالي. ان سبب انخفاض المسار الايضي في الكبد هو تثبيط لاكتيت ديهايدروجنيز المايتوكوندريا والنتيجة فأنه يسبب أنخفاضا في الطاقة ATP، وللكرياتين كاينيز دور مهم في تجهيز الطاقة الحيوية الى العضلة القلبية وقد درس بشكل مكثف خلال العقود السابقة وان طاقة الخلايا القلبية تعتمد على الاكسدة الهوائية للأحماض

الدهنية والكربوهيدرات كمواد أساس والذي ينتج ATP في المايتوكندريا بوساطة الفسفرة التاكسدية [30] وبذلك يمكن ان يفسر ارتفاع فعالية انزيم الكرياتين كاينيز.

3- مقارنة مستوى تركيز كل من (Glo, Alb, TP)

تم قياس تأثير المركب المحضر [A] في تركيز كل من البروتين الكلي (TP) والالبومين (Alb) والكلوبيولين (Glo) حيث أن الجدول (3) يوضح مستوى تركيز كل من(TP, Alb , Glo) بين المجاميع الاربعة وكذلك يبين المعدل والانحراف القياسي.

عند قياس تركيز البروتين الكلي في الجدول (٣) لوحظ وجود اختلاف معنوي بين G1, G2, G3, G4 حيث كانت المستويات المجاميع (62.164 ± 2.675)mg/dl , (53.168 ± 2.719)mg/dl , (40.336 ± 2.779)mg/dl , (51.194 ± 4.396)mg/dl على التوالي. لوحظ ان المجموعة G4 لها القدرة على رفع مستوى البروتين الكلي اعلى من المجموعة G3 التي تمثل الأدوية الأصلية منفصلة وقد يعزى سبب ارتفاع مستوى البروتين الكلي إلى إعادة العمليات الأيضية إلى مسارها الطبيعي البنائي في تحفيز عملية بناء مصادر الطاقة في الجسم من البروتينات والدهون.

وبعد استعراض الارقام للمتغير الالبومين في الجدول (٣) لوحظ وجود اختلاف معنوي بين G1, G2, G3, G4 حيث كانت المستويات المجاميع (43.068 ± 2.208)mg/dl, (37.666 ± 2.175)mg/dl, (31.757 ± 3.104)mg/dl , (39.693 ± 3.144)mg/dl على التوالي. لوحظ ان المجموعة G4 لها القدرة على رفع مستوى الالبومين اعلى من المجموعة G3 التي تمثل الأدوية الأصلية منفصلة. وتتفق هذه النتيجة مع (Maha and Oda) [31] وقد يعزى سبب التغير في تركيز الألبومين إلى انخفاض تركيز الكلوكوز في مصل الدم ،

وبما أن الألبومين يعد من مضادات الأكسدة فإنه يعمل على تقليل انتاج الجذور الحرة التي تسبب الانخفاض في الأكسدة الفوقية للدهن أي انخفاض في تركيز المالوندايلديهايد نتيجة لذلك تزداد البروتينات التي تحتوي على الثايول كالألبومين في مصل الدم [32].

و بعد استعراض الارقام للمتغير الكلوبيولين في الجدول (٣) لوحظ وجود اختلاف معنوي بين G2, G3, G1, G4 حيث كانت المستويات المجاميع (19.096 ± 2.454)mg/dl , (15.502 ± 2.686)mg/dl , (8.579 ± 2.176)mg/dl , (11.501 ± 5.963)mg/dl على التوالي. لوحظ ان المجموعة G4 لها القدرة على ارتفاع مستوى الكلوبيولين اعلى من المجموعة G3 التي تمثل الأدوية الأصلية منفصلة. ان الكلوبيولين يعد من الاجسام المضادة ويقوم بوظائف دفاعية [33].

المصادر

1- Cooke , Dw., and Plothick , L. (2008),"**Type 1 Diabetes mellitus In pediatrics** ", pediatr Rev 29 (11) : 374-385 .

2- Poretsky , L.(2010),"**Principles of Diabetes mellitus**",2nd edition,Springer, 886-933.

3- Wyngaardan, JL. And SmithHD BK.(2009), "**Cecil textbook of medicine**",19th ed, 36:110-115.

4- Amercan Diabetic Associat. Ion. (2009),"**Diagnosis and Classification of Diabetes mellitus** ", Diab car 20:1183 – 1197 .

5- Fonseca , V.A.;Pendergrass, M. and McDuffie, R.H,(2010),"**Diabetes in clinical practice**", springer,81.

6- Sweetman, S.C.(2009),"**Martindale :The complete Drug Reference**",36th edition, PhP pharmaceutical press, London ,Chicago, 3694.

7- Nelson, R,; Spann, D,; Elliott.;D,; Bronds,A and Vuliet,R. (2004),"**Evaluation of the antihyperglycemic drug metformin in normal and diabetic cats**", J Vet Int Med,18:18-24.

8- Budavari,S.and Editors ,I. (2001),"**The Merck index**", 13th ed., whitehouse station Merck and Co.Inc,998.

9- Wang.S; Kusuhara . H. ; Kato, Y.; Jonker, W. and Sugiyama, Y. (2003)"insolvenent of organic action transporter 1 in the lactic acid caused by metformin",**Molecular pharmacology** , 63(14):844-848.

10- Al-Mossawe .Jawed, F. H.(2010),"**The Efficacy of Metformin in Treatment of Ovarian Cysts**", Thi-Qar Medical Journal (TQMJ),4(3):107-111.

11- Al-Jabouri .Nemah H. Mahdi.(2013)," **Effects of Oral Hypoglycemic Drugs on Serum Lipid Profile in Hyperlipidemic Rats**", Medical Journal of Babylon,10(1):245-256.

12- Ibraheem .Qais Ahmed (2012)," **Influence of Metformin Administration on a Modification of TSH, T3 And T4 Level In Women With Polycystic Ovarian Syndrome"**, Al- Mustansiriyah J. Sci 23(4):21-28

13- Senzana , S.; Gordana , Z., Aleksandra , N.; Senzana , B. and Salvinca , M. (2008),"**Quantitative analysis of acetylsalicylic acid in commercial pharmaceutical formulations and Human control serum using kinetic spectrophotometry**", Acta chem solv,55:508-515.

14- Suresh , K. S.; Latif , D. and Prashant , B. (2010),**"Analytical method development and Validation for Aspirin"**, international Journal of chemtech Research,2(1):389.

١٥- الجبوري, نعمة حسوني مهدي .(2009)," **تأثيرات مضادات الالتهاب غير الستيرويدية في مخاطية المعدة في الجرذان مقارنة بين الأدوية المثبطة اللاانتقائية لعمل أنزيم الكوكس2 وتلك المثبطة انتقائيا لعمل هذا الأنزيم** ", مجلة جامعة دمشق للعلوم الصحية ,المجلد ٢٥ , العدد٢.

١٦- كاظم, محمد جواد الطبية .(2010) ," **تأثير الأسبرين على صفة الإنتاج في فروج اللحم** ", مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية، العدد ٢، المجلد1 .

17- Langley, R.E.; Ward Ltd, V.; Trevor and Anor (2011)," **Aspirin and cancer: has aspirin been overlooked as anadjuvant therapy"**, Brit. J Cancer,105:1107-1113.

١٨- الجميلي, تحسين سليمان سعيد.(٢٠١٠)," **دراسة بايوكيمياوية لبوليمرات الكيتين والكيتوسان المستخلصة من قشور الروبيان والمحملة دوائياً",** رسالة ماجستير, كلية العلوم , جامعة تكريت.

19- Trinder, P.Ann . (1969),"determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen receptor",**Clin Biochem**,6:24-33.

20- Tietz, N.(2010), **" Text book of Clinical chemistry " ,** 7 th ed ., C.A., Burtis E.R., Ash Wood W.B., Saunders: 819-861.

21- Allain,C.C.; Poon, L.S.; Chan , C.S.G. ; Richmond , W. and Fu, P.C. (1974),"**Enzymatic determination of the Serum cholesterol**",Clin. Chem, 20:470-475.

22- Murry ,J. Mc.(2008),"**Organic Chemistry**",7th ed,Thomson Learning,Inc, 790-862.

23- Nicole, S.F.; Noel, J.C.; Anthong , R.C.; Gareth, D. and Graham, A.J.(2001) ,"**Effect of aseries of novel sulphonyl thioureas on glucose tolerance in the obese falfa zuker rat**",Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 28: 386-391.

24- Subhabrata, K.; Sangha, R.B. and Nayak, N.(2004),"**Dexamethasone induced diabetes amodel to screen insulin sensitisers**",Indian J. Pharmacol,36(2):112-126.

25- Shatha,Hani Mohamad. (2011),"**Effects of repaglinide vs glimepiride on serum glucose concentrations,HbA1c and body weight in patients with type 2 diabetes mellitus**",Tikrit Medical Journal,17(2): 109-115.

26- Sazan, D. S.; Kassim, J.S. and Ansam, N.H. (2012),"**Comparative study between Metformin, Glibenclamide and their combination in newly diagnosed diabetic (type II) patients in Hawler City**",AJPS,12(2):61.

27- Fulgencio , J.P.; Kohi, C.; Girard, J. and Pegorier, J.P.(2001),"**Effect of metformin on fatty acid and glucose metabolism in freshly isolated hepatocyte and on specific gene expression in cultured hepatocyte**",Biochem, Pharmacol, 62: 439-440.

28- Iozzo, P.; Hallsten, K.; Oikonen, V.; Virtanen, K.A.; Parkkola, R. and Kemppainen, J.(2003),"**Effect of metformin and rosiglitazone monotherapy on insulin mediated hepatic glucose uptake and their relation to vesceral fat in type 2 diabetes**",Diab. Care, 26: 2069-2074.

٢٩- المظفر.سامي عبد المهدي .(١٩٩٠)**,"الكيمياء الحياتية-الكتاب الثاني"**, الطبعة الثانية,مطابع دار الحكمة , جامعة بغداد - كلية العلوم ,ص٤٢١ .

30- Taegtmeyer, H.;Wilson, C.R.;Razeghi, P. and Sharma, S.(2005),"metabolic energestics and geneticsin the heart", **Ann.N.Y. Acad .SCI**. ,1047:208-218.

31- Maha,F.;Smaism and Oda, M. Yasser**.**(2012**),"Type 2 Diabetic Nephropathy in Uncontrolled Patients Treated with Daonil® and Glucophage",**Medical Journal of Babylon,9(2):452.

32- Halliwell , B.(1996),"**Antioxidants in human health in disease**", Annu.Rev .Nutr ,16:33-50.

33- Kaplan, L.A.(1989),"**Clinical Chemistry :Theory, Analysis and Correlation** " , The C.V., Mosby Co., 2Th.,edition,776.

الجدول رقم. (1) :يوضح مستوى تركيز (GLU) لمجموعة السيطرة السليمة (G1) ومجموعة السيطرة المصابة (G2)وللمجموعة التي جرعت دواء الميتفورمين والاسبرين منفصلة (G3) والمجموعة التي جرعت الدواء المصاحب المقترح (G4).

Parameters	Group	N	Mean ± SD
Glucose mg\dL	G1	١٠	90.35 ± 2.27 d
	G2	١٠	230.80 ± 8.24 a
	G3	١٠	110.08 ± 4.08 b
	G4	١٠	102.35 ± 2.30 c

♦ الأحرف المختلفة تعني وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية $p \leq 0.05$

الجدول رقم. (2):يوضح مستوى فعالية (CK , LDH) للمجموعة السيطرة السليمة (G1) والمجموعة السيطرة المصابة (G2) وللمجموعة التي جرعت دواء الميتفورمين و الاسبرين منفصلة (G3) والمجموعة التي جرعت الدواء المصاحب المقترح (G4).

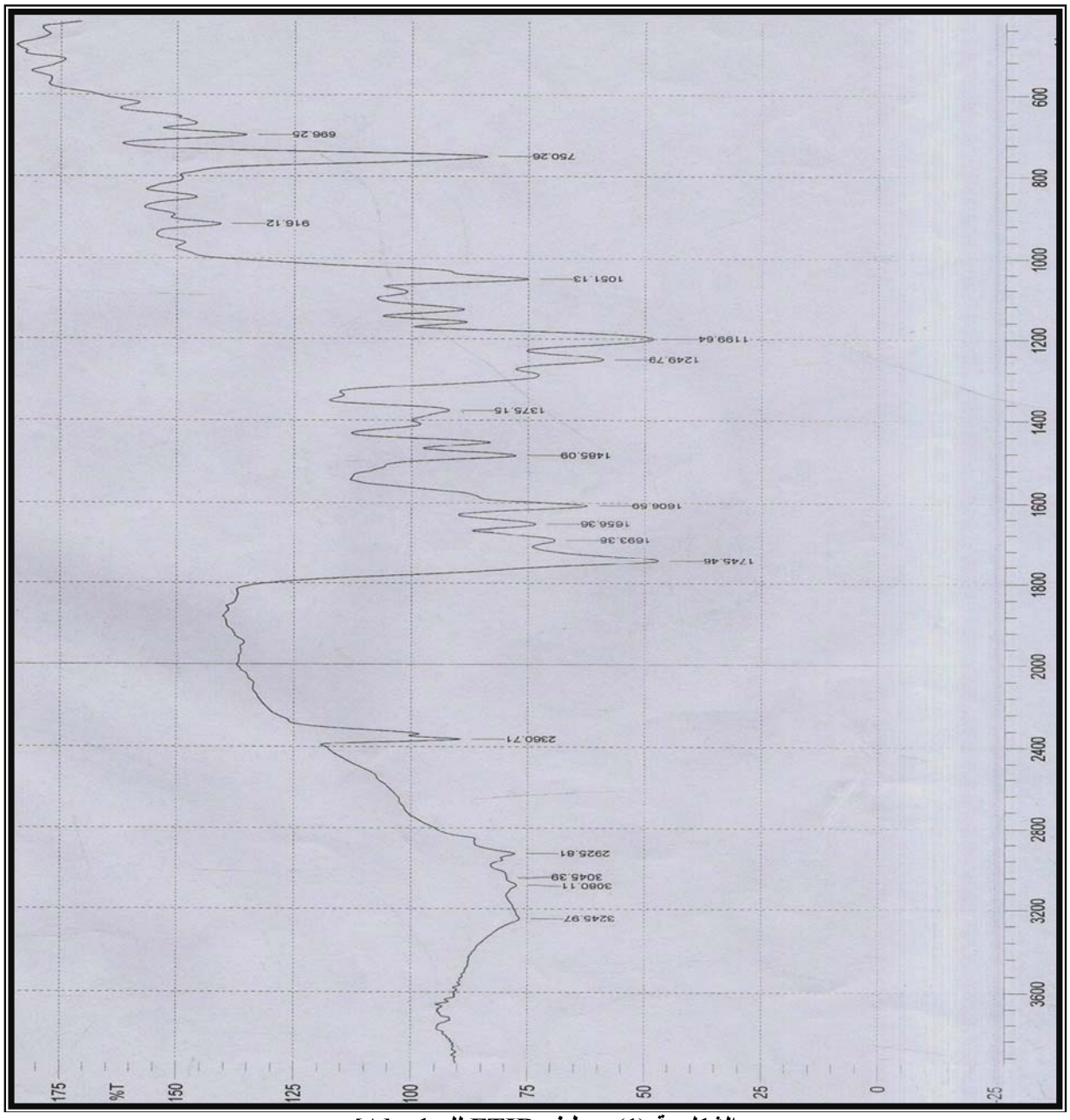
Parameters	Group	N	Mean ± SD
Lactate dehydrogenase U/L	G1	١٠	233.33 ± 25.66 b
	G2	١٠	399.70 ± 62.66 a
	G3	١٠	228.70 ± 35.68 b
	G4	١٠	215.20 ± 24.43 b
Creatinkinase U/L	G1	١٠	35.367 ± 2.759 d
	G2	١٠	62.775 ± 3.580 a
	G3	١٠	38.807 ± 3.103 c
	G4	١٠	42.725 ± 4.544 b

♦ الأحرف المختلفة تعني وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية $p \leq 0.05$

الجدول رقم.(3) يوضح مستوى تركيز (Glo, Alb, TP) لمجموعة السيطرة السليمة (G1) ومجموعة السيطرة المصابة (G2) وللمجموعة التي جرعت دواء الميتفورمين و الاسبرين منفصلة (G3) والمجموعة التي جرعت الدواء المصاحب المقترح (G4).

Parameters	Group	N	Mean ± SD
Total protein g\dL	G1	١٠	51.194 ± 4.396 b
	G2	١٠	40.336 ± 2.779 c
	G3	١٠	53.168 ± 2.719 b
	G4	١٠	62.164 ± 2.675 a
Albumin g\dL	G1	١٠	39.693 ± 3.144 b
	G2	١٠	31.757 ± 3.104 c
	G3	١٠	37.666 ± 2.175 b
	G4	١٠	43.068 ± 2.208 a
Globulin g\dL	G1	١٠	11.501 ± 5.963 c
	G2	١٠	8.579 ± 2.176 c
	G3	١٠	15.502 ± 2.686 b
	G4	١٠	19.096 ± 2.454 a

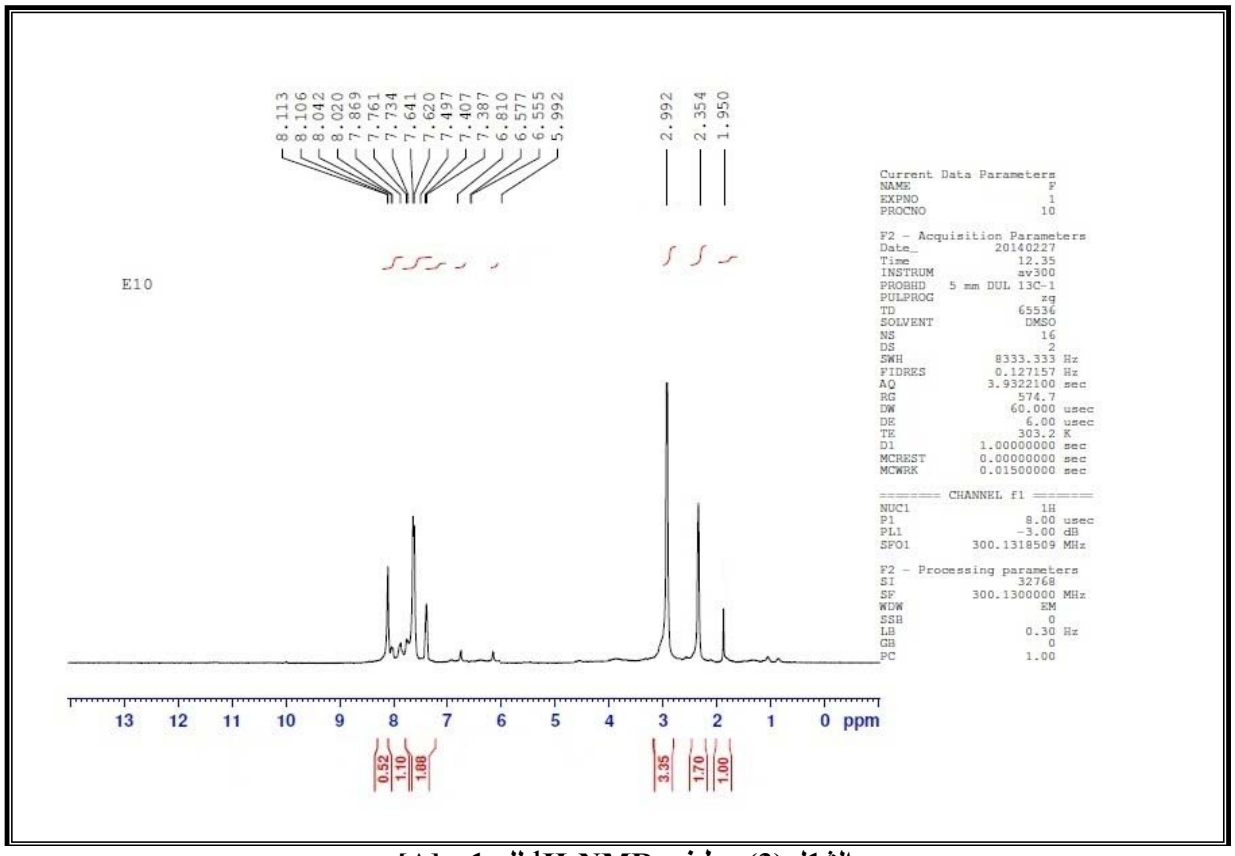
♦ الأحرف المختلفة تعني وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية $p \leq 0.05$



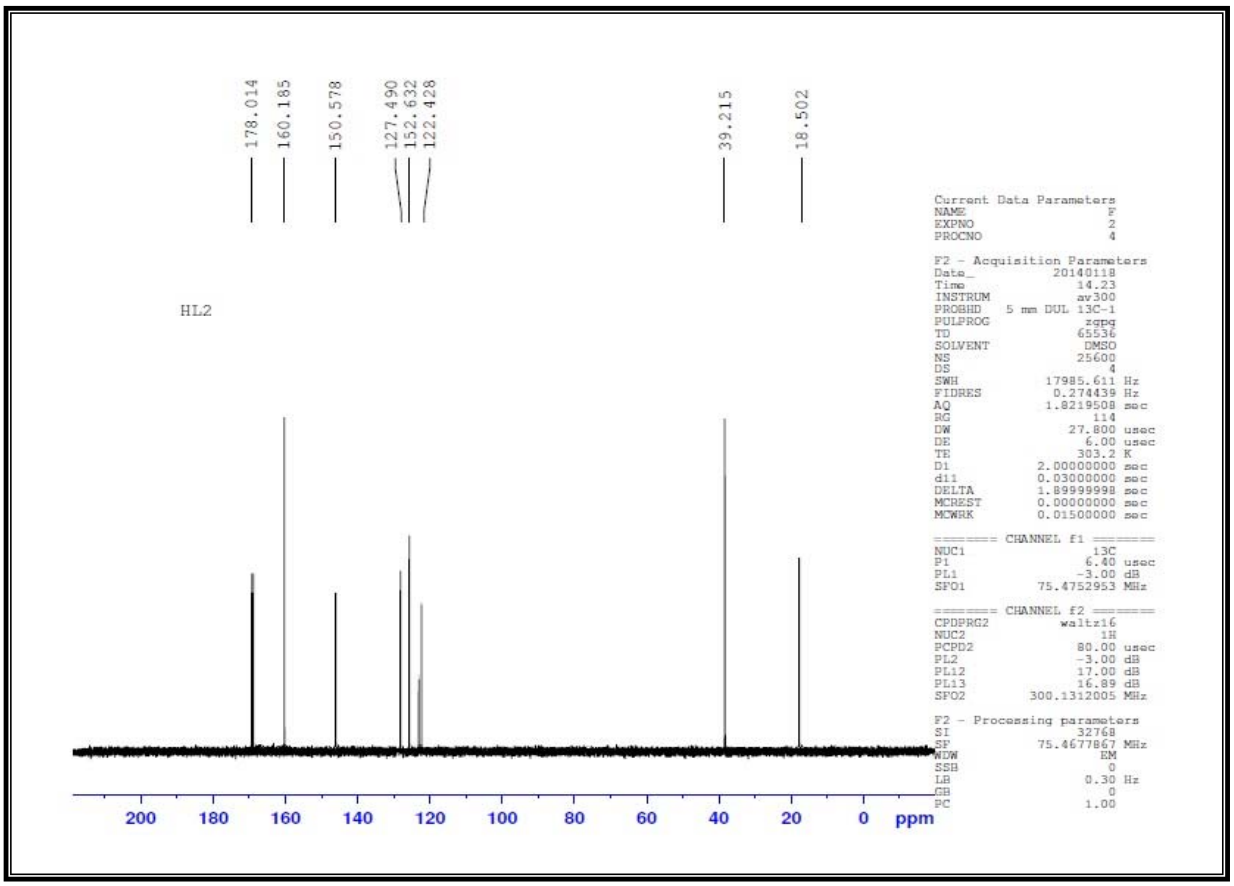
الشكل رقم(1) : طيف FTIR للمركب [A]

Sample Name	Sample ID#	C%	H%	N%	O%
E2		53.204	5.797	24.286	16.713
		53.480	5.805	24.304	16.411
Average		**53.342**	**5.801**	**24.296**	**16.562**
Date : 16-1-2014		Signiture :			

الشكل (2): التحليل الدقيق للعناصر CHNO للمركب [A]



الشكل (3): طيف ^{1}H-NMR للمركب [A]



الشكل (4): طيف ^{13}C-NMR للمركب [A]

Preparation of One of Metformin Derivatives and Study Its Effect on Some Biochemical Parameters in Blood Sera of Rabbits

Firas Sh. Abdul- Razzak
Fadhel A. AL-Janabi
Dept. of Chemistry /College of Education for Pure Science / University of Tikrit
Received in: 21 December 2014،Accepted in: 23 January 2015

Abstract

This study aimed to synthesize a novel amide prodrug of metformin with aspirin by amide bond. The structure was characterized by **(FTIR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR and CHNO)** ,Purification of the prepared compound was using column chromatography.

Using of 40 rabbit having the same weight and devided into 4 groups (4x10) the first group (G1): (the control healthy group) was given drink water and didn't give any material, second group(G2):(the control infected group) was given hydrogen peroxide concentration % 0.5 until infecting diabetes mellitus, third group(G3): was given hydrogen peroxide concentration as in (G2) and (250 mg/kg) of aspirin and (348.8 mg/kg) of metformin, fourth group(G4): was given hydrogen peroxide concentration as in (G2) and (596.3 mg/kg) of the proposed prodrug.

After 3 hours, blood was taken from all groups, the serum was separated, and prepared to study it with biochemical and enzymatic study.

Statistical data analysis revealed significant decrease in the levels of (lactate dehydrogenase, creatinkinase) , and significant decrease in the concentration of (Glucose) , and significant increase in the concentration of (total protein, albumin, globulin) affected by the prepared Compound [A] as compared with the control infected group.

Statistical analysis revealed significant decrease in the levels of (Lactate dehydrogenase) and significant increase in the levels of (creatinkinase) , and significant increase in the concentration of (Glucose, albumin, total protein and globulin) affected by prepared compound [A] as compared with the control healthy group.

Keywords: Diabetes Mellitus , Metformin , Aspirin