دراسة تأثير بعض مشتقات الثايوسيمكاربازايد ومعقداتها مع بعض العناصر الانتقالية على فعالية أنزيم الفوسفاتيز القاعدي

أياد عبد الرزاق مطر[1] وعمر حمد شهاب العبيدي[2] وسجى سعدون فارس [1]
[1]جامعة الانبار/ كلية العلوم / قسم الكيمياء
[2]جامعة الانبار/ كلية التربية للبنات

ABSTRACT

This research involves study the biological activity of some Thiosemicarbazide derivatives & its complexes with some transition metals from the degree of inhibition obtained .

The result obtained from (Lineweaver – Burk) plot indicates that the inhibition is Non-Competitive.

The inhibition percentage obtained confirmed that salicylaldehyde-3-thisemicarbazone with metal of Iron has a higher inhibition than remnant of complexes .

الخلاصة

تضمن البحث دراسة الفعالية الحيوية لعدد من مشتقات الثايوسيمكاربازايد ومعقداتها مع كلوريدات العناصر الانتقالية Co(II) ، Fe(III) ، Cu(II) و Ni(II) المحضرة حيث درست تأثيرها كمثبطات على فعالية أنزيم ALP وتم تعيين تركيز المثبط مع الأنزيم لاعطاءه أعلى نسبة مئوية للتثبيط . وقد أظهرت النتائج المستحصلة من رسم لينويفربرك أن التثبيط يكون غير تنافسي وقد أكدت نتائج النسبة المئوية للتثبيط أن لمعقد Salicylaldehyde-3-thisemicarbazone مع عنصر الحديد قوة تثبيطية أعلى من باقي المعقدات .

المقدمة

ينتمي الفوسفاتيز القاعدي إلى صنف الأنزيمات المميئة وفقا لـ (IUB) ، إذ رقم التصنيف للفوسفاتيز القاعدي هو (E.C. 3.1.3.1) الذي أعطي وفقا لمجموعة الفوسفات المنتقلة خلال التفاعل(2,1) .

يوجد أنزيم الفوسفاتيز القاعدي في عدة أنسجة من الجسم وخاصة في أغشية الخلايا(Cell Membrane)(3) ، كما يوجد بتراكيز عالية في الغشاء الظهاري للأمعاء (Intestinal Epitheliume)(4) وفي الكبد (Liver) والمشيمة (Placenta) وفي العظام (خلايا التعظم) (Osteoblasts) والأنابيب الكليوية الصغيرة (Kidney Tubules) (5) ، كما يوجد في الكروموسومات (Chromosomes)(6) وفي الثدي أثناء عملية الرضاعة(7).

و تنشط فعالية هذا الأنزيم بوجود بعض الايونات الفلزية الثنائية التكافؤ مثل Mg^{+2} و Mn^{+2} و Co^{+2} و Zn^{+2} ويمتاز ايون المغنيسيوم بالذات (Mg^{+2}) بإكساب الفعالية الأمثل لهذا الأنزيم وكذلك ايون بتكوينه معقدات مخلبية(8) ، وتعتبر الايونات اللافلزية السالبة مثل البورات والاوكزالات والسايانيد من مثبطات فعالية هذا الأنزيم ، ويثبط الأنزيم أيضا بوساطة المركبات التي يحصل بها اقتناص Chelating مع ايون الخارصين Zn^{+2} المنشط لفعالية الأنزيم كما في cystiene وكذلك مركب-ortho phenanthroline والتتراسايكلين وقد يكون تأثير المادة المثبطة مؤقتا يزول بزوالها وقد يكون دائميا(9) .

ان مشتقات الثايوسيمكاربازايد لها تطبيقات واسعة في المجالات الطبية والبايولوجية من خلال استعمالها في معالجة أنواع معينة من الأمراض والسرطانات التي تصيب جسم الإنسان . فقد تم استعمال بعض المركبات الحاوية على الكبريت والنتروجين كمساعدات أنزيمية تحضيرية وكما هو الحال في معقدات النيكل والنحاس والزنك من نوع (S وN) إذ تزداد فعالية مشتقات الثايوسيمكاربازايد عند تكوينها معقدات مع الايونات الفلزية(10-12) .

لقد ظهرت أهمية الثايوسيمكاربازونات و خاصة المركب (2- فورميل بيريدين أو كوينولين ثايوسيمكاربازون) في إمكانية استخدامها كمضاد للاورام ، كما إن لها فعالية في تثبيط عمل أنزيم الفوسفاتيز القاعدي(13). فقد حضرت مشتقات 2-فورميل كوينولين ثايوسيمكاربازون 2-formylquinoline thiosemicarbazone ومعقداتها مع الحديد الثلاثي التكافؤ والنيكل والكوبلت

الثنائية التكافؤ ولوحظ أن لبعضها فعالية في تثبيط أنزيم ALP (14) .وحضرت سلسلة جديدة من مشتقات 2- فورميل كوينولين ثايوسيمكاربازون ومعقداتها مع الحديد الثلاثي التكافؤ والنحاس والكوبلت الثنائية التكافؤ تمت دراسة تأثير هذه المركبات على أنزيم ALP المستخلص من طفيليات اللشمانيا دونوفاني L – donovani المختبرية ، حيث لوحظ أن لبعض هذه المركبات القابلية في تثبيط هذا الأنزيم(15) .

أما بالنسبة لمعقدات الفلزات فان استخدامها في العلاجات ليس بالأمر الجديد إذ عرف عدد منها كمواد علاجية وبذلك فتحت معقدات الفلزات المخلبية مجالات واسعة في الكيمياء العلاجية(16)، فقد حضرت سلسلة من معقدات النحاس الثنائي لـ Thiosemicarbazones المعوضة بالمجموعة (2-Acetyl–Pyridyl–4N) وسلسلة أخرى تضمنت المجموعة المعوضة(2-Acetyl–6- Picolyl– 4N) حيث أثبتت هاتان السلسلتان قابليتهما كمواد مضادة للورم السرطاني االخاص بلوكيميا الفئران نوع CFI (17,18) .

كما حضر Collins وجماعته(19) المركب 2- acetylpyridine thiosemicarbazone ومعقداته مع Cu^{+2} ، Ni^{+2} ، Co^{+2} ، ووجد أن استخدام المعقدات في العلاجات أكثر فعالية مقارنة بالليكاندات الحرة ، وأظهرت معقدات النحاس مع نفس المركب فعالية ضد الملاريا(18-20) .

المواد وطرائق العمل

2-1 الأجهزة والمواد المستخدمة

Centrifuge Sigma, Sensitive Balance Sartorius, Water Bath Julabo , Incubator Gallen Kamp, Elemental Analysis perken Elmer- 240B, Melting Point Apparatus Gallen Kamp MFB – 600**,** FT - IR Spectrophotometer Shimadzu FT- IR 8400S, U.V- Visible Spectrophotometer Shimadzu UV – 160, Spectrophotometer Corning Colorimeter 253,Carbonate–bicarbonate Buffer, Substrate Solution,4-N,N-dimethylamenobenzaldehyde Benzaldehyde, Ethanol absolute, Salicylaldehyde Thiosemicarbazide,3-chlorobenzaldehyde,Potassiu-mbromide,Copper(II)chloride-2–hydrate,Ferric(III)chloride-6-hydrate,Cobalt (II) chloride-6-hydrate,Dimethyl sulfoxide. ، Nickel (II) chloride -6- hydrate،

طريقة العمل 2-2

A - تحضير مشتقات الثايوسيمكاربازايد [L_1,L_2,L_3,L_4]

حضرت مشتقات الثايوسيمكاربازايد بطريقة التكاثف المباشر بين الالديهايدات الاروماتية مع الأمين الأولي الاليفاتي (الثايوسيمكاربزايد)(21) الشكل (1) تركيب الليكند L1 .

B- تحضير معقدات الليكاند [L_1] من النوع [$M(L_1)Cl_n.nH_2O$] (22)

إذ ($MCl_n.6H_2O$ = $FeCl_3.6H_2O$، $NiCl_2.6H_2O$, $[CoCl_2.6H_2O]$,$[CuCl_2.2H_2O]$

حضرت باقي المعقدات الأخرى المشابهة بنفس الطريقة أعلاه مع مراعاة تغيير الليكند في كل مرة والشكل (1) يبين تركيب عدد منالمعقدات المحضرة لليكند L_1.

C- تقدير فعالية أنزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP

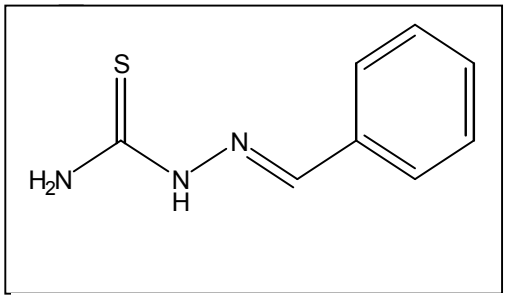
تم تحضير محلول بفر عند pH=10 (0.1M) Carbonate – bicarbonate Buffer وكاشف (4- aminoantipyrin) (60 mmol /l)ومحلول المادة الأساس Substrate Solution المتمثلة (disodium phenylphosphate) وتعيين فعالية أنزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP في مصل دم الإنسان باستخدام طريقة Kind and Belfield(23,24) وتم قراءة التغيير في شدة الامتصاص للانزيم عند طول موجي (510 nm) وقد تم جمع النماذج من الأشخاص الأصحاء .

D- تقدير فعالية أنزيم ALP بوجود المركبات المحضرة

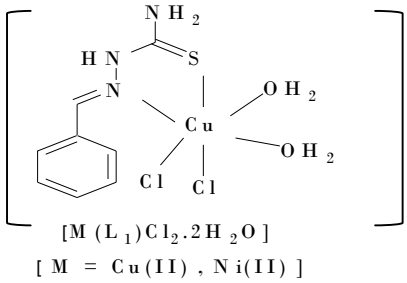
حضرت سلسلة من التراكيز المختلفة لكل مركب من المركبات المحضرة بالتخفيف من المحلول القياسي المحضر بتركيز 0.5 M للحصول على التراكيز:M (1×10^{-2} ، 7×10^{-3} ، 5×10^{-3} ، 1×10^{-4},) تم تعيين فعالية الأنزيم بوجود المركبات المحضرة إذ أضيف 0.1 ml من التراكيز المحضرة و المذابة في الـ DMSO إلى مزيج من 0.9 ml من المحلول المنظم و 1 ml من المادة الأساس ومزجت المحتويات بشكل جيد وجرت الإضافات الأخرى بإتباع الطريقة الموضحة في (فقرة C) ، قدّرت فعالية الأنزيم ALP بوجود المركبات L_1 , L_2 , L_3 , L_4 ومعقداتها مع كلوريدات العناصر الانتقالية Co(II) ، Fe(III) ، Cu(II)وNi(II) المحضرة تحت الدراسة لمعرفة قدرتها على تثبيط الأنزيم حيث تم إذابة المركبات في مذيب DMSO وتم عمل محلول قياسي(0.5 M) لكل مركب وإضافة مختلف الأحجام لهذه المحاليل المحضرة إلى المزيج القياسي وتم تعيين الفعالية باستخدام الطريقة المذكورة في الفقرة (C) أعلاه تم اختبار واستعمل DMSO كمحلول سيطرة وتم تعيين النسبة المئوية للتثبيط وذلك عن طريق مقارنة الفعالية باستخدام ودون استخدام المثبط تحت نفس الظروف وقد جرى تعيين ثلاث مكررات لكل مركب وتم دراسة تأثير المذيب DMSO على فعالية الأنزيم ALP فلم يظهر أي تأثير تثبيطي أي انه لا يؤثر على فعالية الأنزيم(25) .

E- دراسة نوع التثبيط Inhibitor Type Study

تم دراسة نوع المادة المثبطة وذلك عن طريق تثبيت تركيز المادة المثبطة و تغيير في تركيز المادة الأساس . استعمل تركيز واحد لكل المركبات 1×10^{-2} M ، أما تركيز المادة الأساس فقد تراوح بين (8×10^{-4} – 0.01 M). تم تعيين فعالية الأنزيم حسب طريقة العمل الموضحة في (فقرة C) بوجود وعدم وجود المادة المثبطة وعلى نفس الأنزيم وتحت نفس الظروف وبرسم علاقة لينويفر- برك [S] / 1 ضد [V] / 1 باستخدام وعدم استخدام المثبط تم حساب (قيمة Km ، قيمة Vmax،نوع التثبيط) .



الليكند L1



شكل -1: معقدات الليكند L1

النتائج والمناقشة

حضرت أربع ليكاندات مشتقة من الثايوسيمكاربازايد بوساطة طريقة التكاثف المباشر للالديهايدات الاروماتية مع الأمين الأولي (الثايوسيمكاربازايد) ، شخصت الليكاندات بالتحليل الدقيق العناصر (C.H.N.) كما مبين في الجدول (1) بالإضافة إلى استعمال تقنيات طيف الأشعة فوق البنفسجية Uv.–Visوطيف الأشعة تحت الحمراء (IR) .

حضرت المعقدات من تفاعل كلوريدات العناصر الانتقالية الحديد (III) ،الكوبلت (II) ،النيكل (II) والنحاس (II) مع مشتقات الثايوسيمكاربازايد ، شخصت المعقدات بالتحليل الدقيق للعناصر (C.H.N) والتحليل الكمي للعناصر الفلزية، فضلا عن القياسات المغناطيسية والتوصيلية الكهربائية المولارية والنسبة المولية (فلز : ليكاند) وكذلك باستخدام تقنيات طيف الأشعة تحت الحمراء وطيف الأشعة فوق البنفسجية كما مبين في الجدول (1).

1-3 تأثير الليكاندات ومعقداتها على فعالية أنزيم ALP

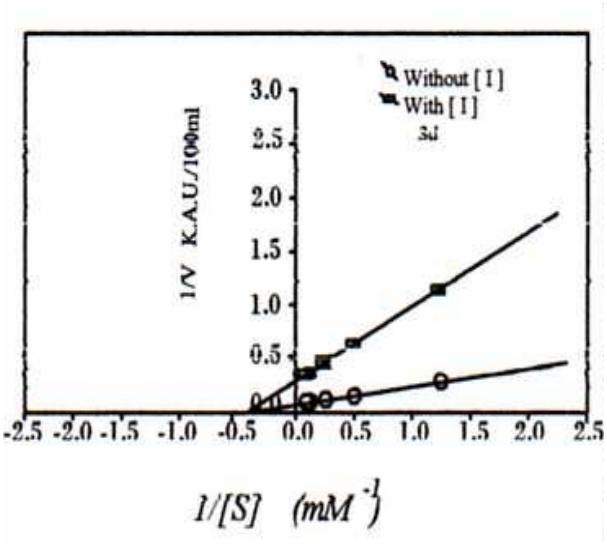
تم قياس الفعالية الأنزيمية لأنزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP الموجود في مصل دم الإنسان (Serum) مختبريا(In Vitro) لنماذج مختلفة من الرجال والنساء وذلك باستخدام طريقة Kind and Belfield[23,24].

وقد تراوحت الفعالية الأنزيمية بين (4.31±0.52 – 8.51±0.221 U/100ml) وهذه القيم كانت ضمن معدل الفعالية الأنزيمية لأنزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP في مصل دم الإنسان[26]. كما تم تعيين الفعالية النوعية لكل نموذج مستخدم وقد تراوحت ما بين (0.07 – 1.43 U/mg) . تم تقدير البروتين الموجود في كل نموذج من المصل باستخدام طريقة لوري (Lowry Method)[27] .

تم دراسة تأثير الليكاندات ومعقداتها المحضرة على فعالية أنزيم (ALP) في مصل دم الإنسان (Serum) مختبريا (In Vitro) عند تراكيز مختلفة تراوحت بين($1x10^{-4}$– $1x10^{-2}$ M) ، وقد بينت النتائج أن المعقدات $[Co(L_2)Cl_3]$ ، $[Co(L_3)Cl_3.H_2O]$, $[Co(L_4)Cl_3.H_2O]$, $[Fe(L_3)Cl_3.H_2O]$, $[Fe(L_2)Cl_3]$, $[Cu(L_2)Cl_2.H_2O]$, $[Ni(L_3)Cl_2.2H_2O]$, $[Cu(L_1)Cl_2.2H_2O]$, $[Fe(L_4)Cl_3.H_2O]$,$[Cu(L_4)Cl_2.2H_2O]$, $[Cu(L_3)Cl_2.2H_2O]$, $[Ni(L_2)Cl_2.H_2O]$, $[Ni(L_4)Cl_2.2H_2O]$ أظهرت تأثيرا مثبطا على أنزيم (ALP) وكانت النسبة المئوية للتثبيط تتراوح ما بين (91.2 % – 45.5) بينما أظهرت باقي المعقدات تأثيرا منشطا عليه كما موضح في الجدول (2) ، كما أظهرت الليكاندات الحرة تأثيرا منشطا على الأنزيم كما هو موضح في الجدول(3).

2-3 دراسة نوع التثبيط Inhibition Type Study

تم دراسة نوع التثبيط وذلك باستخدام تركيز ($1x10^{-3}$ M) أما تركيز المادة الأساس فقد تراوح بين ($1x10^{-2}$ M – $8x10^{-4}$) .ومن رسم علاقة لاينويفر- برك (Lineweaver – Burk) Relationما بين تركيز المادة الأساس 1/[S] ضد مقلوب سرعة التفاعل الأنزيمي 1/[V] شكل (2) كانت قيمة (Vmax) تتغير بينما تبقى قيمة (Km) ثابتة لا تتغير وهذا يؤدي إلى الاستنتاج بان نوع التثبيط هو غير تنافسي (non-Competitive) ، وتم تثبيت قيم Km , Ki و Vmax في الرسوم البيانية وقيمها في الجدول (4) .



شكل-2: رسم لينويفربرك(Lineweaver – Burk) والذي بين ان نوع التثبيط هو غير تنافسي (Non-Competitive)

جدول-1: الخواص الفيزياوية والقياسات الطيفية لليكندات ومعقداتها

No. of Comp.	Physical properties and spectral data
L_1	**M.P. °C** : 193 -195, **Calc. % (Found %)**, **C** 53.55(53.49), **H** 5.02(4.97), **N** 23.43(23.37) IR:ν N-H3398, ν C = N 1620, δ$NH_2$1370, ν C=S 831 UV-Vis.: 234 , 304 nm
L_2	**M.P. °C** : 170 – 172**, Calc. % (Found %)**,C 49.17(49.12),H 4.60 (4.57), N 21.51 (21.48), IR: (ν N-H3400, ν C = N 1618, δ $NH_2$1373, ν C=S 831)cm^{-1}, UV-Vis.: 230 , 301 nm
L_3	**M.P. °C** : 178 – 180, **Calc. % (Found %)** C 44.92(44.89),H 3.74 (3.68), N 19.65 (19.61), IR: (ν N-H3400, ν C = N 1620, δ $NH_2$1372, ν C=S 831) cm^{-1} ,UV-Vis.: 238 , 302 nm
L_4	**M.P. °C:** 151 – 153, **Calc. % (Found %)** C 55.73(54.99),H 6.50 (6.46), N 26.02 (25.93), IR: (ν N-H3400, ν C = N 1619, δ$NH_2$1370, ν C=S 831) cm^{-1} ,UV-Vis.: 237 , 304 nm
$[Co(L_2)Cl_3]$	**M.P. °C:** 223 – 225, **Calc. % (Found %)** C 26.69(26.64),H 2.22 (2.17), N 11.68 (11.62),M 16.39 (16.31) IR: (ν N-H3398, ν C = N 1600, δ $NH_2$1370, ν C=S 757)cm^{-1}, UV-Vis.: 245 , 345,377 nm
$[Co(L_3)Cl_3.H_2O]$	**M.P. °C:** 206 – 208, **Calc. % (Found %)** C 24.17(24.10),H 2.52 (2.44), N 10.58 (10.53),M 14.84 (14.77) IR: (ν N-H3400, ν C = N 1600, δ $NH_2$1372, ν C=S 786) cm^{-1} ,UV-Vis.: 245 , 344,372 nm
$[Co(L_4)Cl_3.H_2O]$	**M.P. °C:** 280 – 282, **Calc. % (Found %)** C 30.09(30.05),H 4.01 (3.99), N 14.04 (14.03),M 14.78 (14.72) IR: (ν N-H3398, ν C = N 1604, δ $NH_2$1369, ν C=S 757) cm^{-1}, UV-Vis.: 244 , 339,374 nm
$[Fe(L_2)Cl_3]$	**M.P. °C:** 230 – 232, **Calc. % (Found %)** C 26.92(26.86),H 2.24 (2.18), N 11.78 (11.73),M 15.66 (15.63) IR: (ν N-H3397, ν C = N 1609, δ $NH_2$1369, ν C=S 753) cm^{-1}, UV-Vis.: 246 , 341,363 nm
$[Fe(L_3)Cl_3.H_2O]$	**M.P. °C:** 211 – 213, **Calc. % (Found %)** C 24.37(24.28),H 2.54 (2.49), N 10.66 (10.59),M 14.18 (14.16) IR: (ν N-H3399, ν C = N 1607, δ $NH_2$1370, ν C=S 768) cm^{-1}, UV-Vis.: 244 , 348,366 nm
$[Fe(L_4)Cl_3.H_2O]$	**M.P. °C:** 264 – 266, **Calc. % (Found %)** C 30.33(30.24),H 4.04 (4.02), N 14.16 (14.08),M 14.12 (14.07) IR: (ν N-H3398, ν C = N 1605, δ $NH_2$1369, ν C=S 767) cm^{-1}, UV-Vis.: 251 , 342,379 nm
$[Cu(L_1)Cl_2.2H_2O]$	**M.P. °C:** 266 – 268, **Calc. % (Found %)** C 27.45(27.42),H 3.72 (3.65), N 12.04 (11.98),M 18.17 (18.01) IR: (ν N-H3399, ν C = N 1604, δ$NH_2$1371, ν C=S 756) cm^{-1} ,UV-Vis.: 245 , 342,373 nm
$[Cu(L_2)Cl_2.H_2O]$	**M.P. °C:** 285 – 287, **Calc. % (Found %)** C 27.68(27.66),H 2.86 (2.83), N 12.11 (12.05),M 18.32 (18.03) IR: (ν N-H3398, ν C = N 1606, δ $NH_2$1371, ν C=S 786) cm^{-1} ,UV-Vis.: 248 , 345,365 nm

$[Cu(L_3)Cl_2.2H_2O]$	**M.P. °C:** 242 – 244, **Calc. % (Found %)** C 24.99(24.83),H 3.12 (3.09), N 10.93 (10.85),M 16.54 (16.48) IR: (ν N-H3398, ν C = N 1606, δ $NH_2$1371, ν C=S 786) cm^{-1} ,UV-Vis.: 245 , 347,364 nm
$[Cu(L_4)Cl_2.2H_2O]$	**M.P. °C:** 210 – 212, **Calc. % (Found %)** C 31.23(31.16),H 4.67 (4.60), N 14.51 (14.46),M 16.47 (16.39) IR: (ν N-H3399, ν C = N 1598, δ $NH_2$1368, ν C=S 767) cm^{-1}, UV-Vis.: 245 , 338,379 nm
$[Ni(L_2)Cl_2.H_2O]$	**M.P. °C:** 216 – 218, **Calc. % (Found %)** C 28.10(28.02),H 2.93 (2.98), N 12.29 (12.26),M 17.18 (17.11) IR: (ν N-H3398, ν C = N 1602, δ $NH_2$1368, ν C=S 753) cm^{-1} ,UV-Vis.: 250 , 344,357 nm
$[Ni(L_3)Cl_2.2H_2O]$	**M.P. °C:** 237 – 239, **Calc. % (Found %)** C 25.32(25.28),H 3.16 (3.12), N 11.08 (11.04),M 15.50 (15.47) IR: (ν N-H3398, ν C = N 1602, δ $NH_2$1371, ν C=S 781) cm^{-1} ,UV-Vis.: 249 , 343,348 nm
$[Ni(L_4)Cl_2.2H_2O]$	**M.P. °C:** 206 – 208, **Calc. % (Found %)** C 30.95(30.90),H 4.64 (4.58), N 14.40 (14.36),M 15.14 (15.09) IR: (ν N-H3400, ν C = N 1598, δ $NH_2$1370, ν C=S 770) cm^{-1} ,UV-Vis.: 247 , 344,371 nm

جدول - 2 : تأثير المعقدات المحضرة على فعالية الأنزيم ALP

. of Comp.	Activity Without [I]	Activity With [I]							
		$1x10^{-2}$		$7x10^{-3}$		$5x10^{-3}$		$1x10^{-4}$	
		V	Inh.%	V	Inh.%	V	Inh.%	V	Inh.%
$[Co(L_2)Cl_3]$	5.86 ±0.29	0.74 ±0.32	87.4	1.17 ±0.29	80.0	1.57 ±0.39	73.2	2.27 ±0.43	61.3
$[Co(L_3)Cl_3.H_2O]$	4.31 ±0.52	0.45 ±0.34	89.5	1.14 ±0.23	73.5	1.79 ±0.21	58.5	2.52 ±0.45	41.5
$[Co(L_4)Cl_3.H_2O]$	8.51 ±0.22	0.83 ±0.34	90.2	1.19 ±0.27	86.0	2.33 ±0.26	72.5	3.21 ±0.26	62.2
$[Fe(L_2)Cl_3]$	8.15 ±0.26	0.77 ±0.36	91.2	1.02 ±0.25	87.4	1.56 ±0.18	80.9	2.09 ±0.33	74.4
$[Fe(L_3)Cl_3.H_2O]$	7.73 ±0.35	1.35 ±0.25	82.6	1.77 ±0.29	77.1	1.89 ±0.43	75.5	2.43 ±0.41	68.6
$[Fe(L_4)Cl_3.H_2O]$	7.51 ±0.44	1.16 ±0.34	84.6	1.49 ±0.22	80.2	1.83 ±0.45	75.6	2.34 ±0.27	68.8
$[Cu(L_1)Cl_2.2H_2O]$	5.53 ±0.21	1.06 ±0.14	80.8	1.50 ±0.23	72.8	1.86 ±0.27	66.4	2.17 ±0.20	60.7
$[Cu(L_2)Cl_2.H_2O]$	5.71 ±0.14	0.93 ±0.38	83.7	1.24 ±0.34	78.3	2.15 ±0.19	62.3	3.02 ±0.32	47.1
$[Cu(L_3)Cl_2.2H_2O]$	6.76 ±0.31	0.87 ±0.26	87.1	1.48 ±0.24	78.1	2.23 ±0.34	67.0	3.02 ±0.38	55.3
$[Cu(L_4)Cl_2.2H_2O]$	6.83 ±0.185	0.98 ±0.34	85.6	1.23 ±0.22	82.1	1.78 ±0.28	73.9	2.14 ±0.35	68.7
$[Ni(L_2)Cl_2.H_2O]$	6.84 ±0.27	1.02 ±0.21	85.0	1.67 ±0.22	75.6	2.33 ±0.27	65.9	2.63 ±0.32	61.5
$[Ni(L_3)Cl_2.2H_2O]$	6.37 ±0.37	0.83 ±0.20	86.9	1.19 ±0.34	81.3	1.76 ±0.33	72.4	2.19 ±0.27	65.6
$[Ni(L_4)Cl_2.2H_2O]$	7.92 ±0.42	1.10 ±0.27	86.1	2.04 ±0.26	74.2	3.12 ±0.23	60.6	4.08 ±0.23	48.4

جدول - 3 : تأثير الليكاندات المحضرة على فعالية أنزيم ALP

[I] $1x10^{-3}$ M	Vmax U/100ml	Km (M)	Ki (M)	Kind of Inh.
$[Co(L_2)Cl_2\ H_2O]$	3.71	$2.22x10^{-3}$	$1.87x10^{-3}$	Non Comp.
$[Co(L_3)Cl_2.2H_2O]$	2.22	$1.89x10^{-3}$	$2.71x10^{-3}$	Non Comp.
$[Co(L_4)Cl_2.2H_2O]$	3.56	$2.76x10^{-3}$	$0.73x10^{-3}$	Non Comp.
$[Fe(L_2)Cl_3]$	2.23	$2.31\ x10^{-3}$	$0.44x10^{-3}$	Non Comp.
$[Fe(L_3)Cl_3.H_2O]$	3.85	$3.13x10^{-3}$	$1.11x10^{-3}$	Non Comp.
$[Fe(L_4)Cl_3.H_2O]$	3.13	$2.13x10^{-3}$	$1.77x10^{-3}$	Non Comp.
$[Cu(L_1)Cl_2.2H_2O]$	2.56	$2.38x10^{-3}$	$1.89x10^{-3}$	Non Comp.
$[Cu(L_2)Cl_2.\ H_2O]$	4.17	$3.13x10^{-3}$	$1.06x10^{-3}$	Non Comp.
$[Cu(L_3)Cl_2.2H_2O]$	5.88	$3.22x10^{-3}$	$0.64x10^{-3}$	Non Comp.
$[Cu(L_4)Cl_2.2H_2O]$	2.08	$2.08x10^{-3}$	$1.75x10^{-3}$	Non Comp.
$[Ni(L_2)Cl_2.H_2O]$	3.44	$2.68x10^{-3}$	$0.62x10^{-3}$	Non Comp.
$[Ni(L_3)Cl_2.2H_2O]$	3.57	$2.94x10^{-3}$	$1.75x10^{-3}$	Non Comp.
$[Ni(L_4)Cl_2.2H_2O]$	4.34	$2.77x10^{-3}$	$0.67x10^{-3}$	Non Comp.

جدول -4 : قيم Ki ، Km ,V max ونوع التثبيط

No. of Comp.	Activity Without [I]	Activity With [I]							
		$1x10^{-2}$		$7x10^{-3}$		$5x10^{-3}$		$1x10^{-4}$	
		V	Act..%	V	Act.%	V	Act.%	V	Act.%
L_1	7.25 ±0.16	6.31 ±0.39	87.1	6.09 ±0.39	84.0	5.79 ±0.33	79.9	5.41 ±0.33	74.6
L_2	5.71 ±0.41	5.11 ±0.24	89.5	4.48 ±0.43	78.5	4.17 ±0.26	73.1	3.85 ±0.36	67.4
L_3	8.45 ±0.23	7.12 ±0.29	84.3	6.82 ±0.28	80.7	6.31 ±0.26	74.7	6.03 ±0.31	71.4
L_4	6.26 ±0.22	5.48 ±0.13	87.54	5.13 ±0.21	81.9	4.75 ±0.32	75.9	4.53 ±0.26	72.4

المصادر

1. Dixon M. and Webb E.C. , "Enzyme ", 3th ed. , : 255 , Longman group Limited , London (1979) .
2. Nicolae A. and Draghici C. , J. Rev. Chem. , 55 : 179 – 182 (2004) .
3. Elanin M. , J. Biochem. , 244 : 725 (1987) .
4. Burtis C.A. and Ashwood E.R. , " Tietz text book of Clinical Chemistry " , 3th ed. : 676 – 779, W.B. Saunders Company , Philadelphia (1999) .
5. Trepanier J.M.,Seargeant L.E.&Stinson R.A.,J Biochem.,155:653(1976) .
6. Dixon M. and Webb E. ," Enzyme ", 2th ed. , P. 635 , Longman group limited, London (1964) .
7. Carpenter P.L." Microbiology " 2th ed. , : 316 , W.B. Saunders Company, Philadelphia (1961) .
8. Chang T.C. and Wang J.K. , J. Biochem. , 199 : 303 (1994) .
9. Gupta M.K., Singh H.L., Varshney S., Varshney A.K., "Bioinorganic Chemistry & Applications" 1(3-4) : 309–320 (2003) .
10. Lever S.Z. , Burns H.D. , Kervitsky T.M. , Goldfarb H.W. , Woo D.V.
11. Wong D.F.,Epps L.A., Karmer A.V.and Wagner H. N.,J.Nucl.Med. : 26, 1287(1985) .
12. Baidoo K.E. and lever S. Z. , Cancer Res. , (Cuppl) 50, : 799(1990) .
13. O'Neil J.P., Wilson S.R. and Katzenellenbogen J.A. , Inorganic Chemistry , 33 (2): 55 (1994) .
14. Axamawaty M.T.H., A Thesis of M.Sc. in Chem. , Univ. of Baghdad (1983) .
15. West D.X. , Liberta A.E. , Rajendran K.G. and Hall I.H. , J.Inorg. Biochem. 4(2) : 241(1993) .
16. Shamoon R.G. , M.Sc. Thesis , University of Baghdad , (1985) .
17. Maysoon T. , M.SC. Thesis , University of Baghdad (1999) .
18. MillerM.C.,Bastow K.F.,Stineman C.N.,Vance J.R.,West D. X. , and Hall I.H., J. Archiv. Der.Pharmazie, 331(4) :121(1998) .
19. 18- Miller M.C. , Stineman C.N. , Vance J.R , West D.X. and Hall I.H. , J.Anticancer Research , 18(6A) : 4131(1998) .

20. Collins F.M. , Klayman D.C. and Morrison N.F. , J. Gen. Microbiol. , 128 : 1349 – 1356 (1982) .
21. Tudor R. , Aurelian G. , Nicolae A. and Georgescu R. , J.Molecules , 12 :782 – 790(2007) .
22. Agarwal R.K.,Agarwal H.&Chakraborti I.,Qatar Univ.J.Sci.,14(c) (1994).
23. Casas J.J., Garsia M.S. and Sordo J., Coord.Chem.Rev.,197: 209 (2000) .
24. Kind P.R.N. and King E.G. , J. Clin. Path. , 7 : 322 (1954) .
25. Belfield A. and Goldberg O.M. , " Enzyme " 12 : 561 (1971).
26. Klyman D.L. , Scovi J.P. , Bartosevich J.F. and Mason C.J. , J. Med. Chem. , 22 : 1367 (1979) .
27. Schmidt E. and Schmidt F.W. , Clinical Biochem , 26 : 241 ,(1993) .
28. Lowry O.H. , Rosebrough N.J. , Faber A.L. and Randall R.J. , J. Biolog.Chem. , 139 : 265 (1951) .