

(34) البحث عن مواد صيدلانية وتطويرها

منصور بن إبراهيم سليمان¹ – حسن بن عبد القادر البار²

كلية الطب- مركز الملك فهد للبحوث الطبية¹ - قسم الكيمياء- كلية العلوم² - جامعة الملك عبد العزيز

تبذل في جامعة الملك عبد العزيز جهود مكثفة للبحث وتطوير مواد خام ووسيلة للأغراض الصيدلانية. تبنت استراتيجيات ذات محورين: (1) تشييد مركبات عضوية ودراسة تأثيراتها الفارماكولوجية العامة (2) استخلاص وفصل المواد الفعالة من النباتات السعودية البرية والتعرف على تأثيراتها الفارماكولوجية العامة. كمثل للمحور الأول تم تشييد 22 مشتق جديد من البنزين سلفونائل (PSUD)، ودراسة تأثيرها على مرض البوال السكري والتغيرات الكلوية المصاحبة لها. وفي المحور الثاني تم فصل الزيت الطيار (PT) والتعرف على مكوناته الكيميائية وبعض خصه الفارماكولوجية.

For some times an extensive effort was paid in king Abdulaziz University to search and develop new crude or intermediate substances for pharmaceutical purposes. Two strategies were adopted (1) the synthesis and pharmacological screening of organic compounds. (2) The pharmacological is screening, of national flora, for biologically active principles. As an example 22 pyrazol benzenesulphonyl derivatives (PSUD) were syntheses and screened for their hypoglycemic effects and possible effects on early renal changes in diabetic rats. In the second strategy the volatile oil of

Alshara *Plectranthus Tenuiflorus* (PT) was extracted. Its chemical constituents and pharmacological profile were established.

مقدمة

يعتبر البحث عن مواد وسيطة وتطويرها ركيزة هامة لصناعة الدواء الناشئة في المملكة العربية السعودية، حيث تشير الإحصائيات الي نمو متزايد في الطلب على الأدوية، وفي عدد المصانع العاملة في هذا المجال. تعتمد صناعة الدواء في المملكة كما هو الحال في معظم الدول النامية على استيراد المواد الخام او الوسيطة وإعادة تعبئتها مما يزيد من تكلفة الدواء واعتماد المصانع على المصدر الخارجي. وقد لوحظ أن البيئة السعودية غنية بمصادر الطبيعية بما في ذلك المملكة النباتية البرية الكثير منها لم يخضع لتجارب كافية للكشف عن وجود مواد فعالة طبيًا. وبالنظر لأن بعض أنواع نباتية في طريقها للفناء مع التطور العمراني [1]. وضعت خطة للبحث والدراسة ذو محورين هما: المحور الأول يركز على التشييد العضوي المتعدد الخطوات. بث خلال العشرين سنة الأخيرة ركزت عدة مدارس بحثية في مجال التشييد المتعدد الخطوات في تشييد العديد من مشتقات للبنزين سلفونائل يوريا [2] لما لها من أهمية في تصنيع بعض الأدوية الخافضة للسكر مثل مركب الجليبيكلامايد A. كما أن إحدى المشتقات البسيطة من بيرازول البنزين سلفوناميد B تم تسجيله بالولايات المتحدة عام 1993 [3].

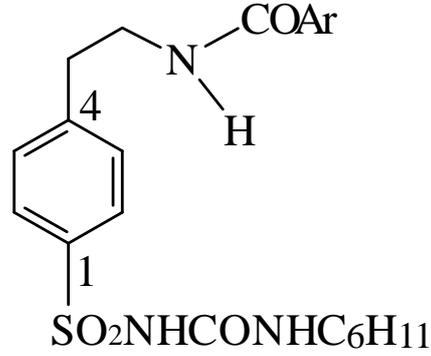
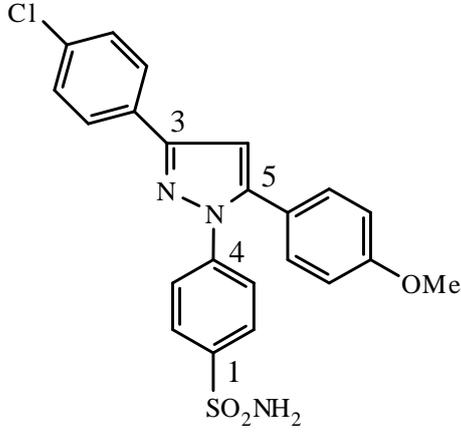
ونظرا للارتفاع في معدل الاصابة بمرض البوال السكري ومن ثم حالات الفشل الكلوي في المملكة لذلك تم تشييد العديد من هذه المشتقات، وذلك بتغير المجموعات على حلقة البيرازول في الموقعين 3 و 5. أخرى بالمواقع 3 و 4 و 5. وذلك لدراسة العلاقة بين التركيبات البنائية لمشتقات البنزين سلفونائل يوريا والفعالية البيولوجية.

المحور الثاني ويعني بتسخير النباتات الشائعة في البيئة المحلية لاستخلاص مواد فعالة يمكن استخدامها كمواد وسيطة في المجالات التطبيقية التي تخدم بصورة مباشرة التنمية الوطنية، وعليه تم تنفيذ عدد من الرحلات العلمية الميدانية في أنحاء متفرقة من المنطقة الغربية والجنوبية. في مجال مراجعة تصنيف النباتات السعودية البرية للتعرف على تأثير عوامل التلوث البيئي والرعي الجارف على هوية هذه النباتات. فقد تم العمل البحثي هنا على إحدى النباتات السعودية التي لم يتم العمل عليها إلا في بحثين [4, 5] حسب المسح البيولوجرافي

المتوفر لدينا حتى نهاية عام 2000 ، وذلك للتعرف عن مكونات الزيت الطيار بشكل متكامل ودراسة خواصه الفارماكولوجية .

2 B : بيرازول البنزين سلفوناميد

A : الجليبنكلامايد



طريقة العمل

ما يخص طرق العمل بمجال الكيمياء العضوية : تم التأكد من قراءات جهاز قياس نقطة الانصهار ، كما تم استخدام الأجهزة التالية : جهاز الأشعة تحت الحمراء (Perkin - Elmer 298 spectrophotometer (KBr) ، جهاز الرنين النووي المغناطيسي DRX-400FT-NMR spectrometer ، وجهاز الكتلة 1H Kratos concept (FAB) والمرتبطة بتقنية الكتلة الدقيقة (Accurate mass) الموجود بجامعة ليستر . وجهاز GC/MS 5000 . وجهاز GC من شركة شيماجو . كما جرى تأمين المواد الكيميائية التي أستخدمت كمواد أولية في هذا البحث من شركة أدريش للكيمائيات . تم تشييد مشتقات البيرازول 22-1 حسب الطريقة الموضحة بالمرجع [2]. وطريق استخلاص الزيت الطيار من نبات الشارة والظروف التي تم استخدامها لفصل والتعرف على مكونات الزيت على جهاز GC و GC/MS موضحة تماما في البحث BIO-11 الموضح بمجلد هذا المؤتمر .

ما يخص طرق العمل بالمسح الفارماكولوجي : أخضعت المركبات المشيدة (PSUD) و الزيت الطيار المستخلص من نبات الشار للمسح الفارماكولوجي المعتاد على النحو التالي:
الحيوانات Animals : استخدمت الفئران rats و الجرذان mice بأعمار و أوزان مختلفة طبقا للاختبار . السمية Toxicity : تم دراسة السمية عن طريق قياس الLD50 و هي الجرعة التي تقتل 50% من الجرذان خلال زمن معين. في هذه التجربة تم حقن 4-5 مجموعات من الجرذان في الغشاء البريتوني. تحتوي كل مجموعة على 4-5 جرذان بجرعات متزايدة من المادة تحت البحث. بعد ذلك تم مراقبة الجرذان لمدة 5 أيام لملاحظة الحالة الصحية و تسجيل أي تغيير في الوزن و لحساب معدل الوفيات.

التأثير المسكن Antinociceptive : تم قياسه في الجرذان وذلك عن طريق حقن الجرذان بمادة مسببة للألم الذي يعبر عادة عنه بعدد الانقباضات التي تعرف ب Writhing reflex نقصان عدد الانقباضات بعد حقن المادة تحت الاختبار يشير ألي أن المادة قد يكون لها تأثير مسكن .
التأثير الخافض للسكر: تم قياسه في مجموعة من الفئران بعد أن تترك صائمة لمدة 24 ساعة حيث تحقن الفئران بالمادة تحت الاختبار وبعد ساعة تؤخذ سحبة دم من القلب بعد تخدير الفأر بمادة الأثير. ويقاس فيها

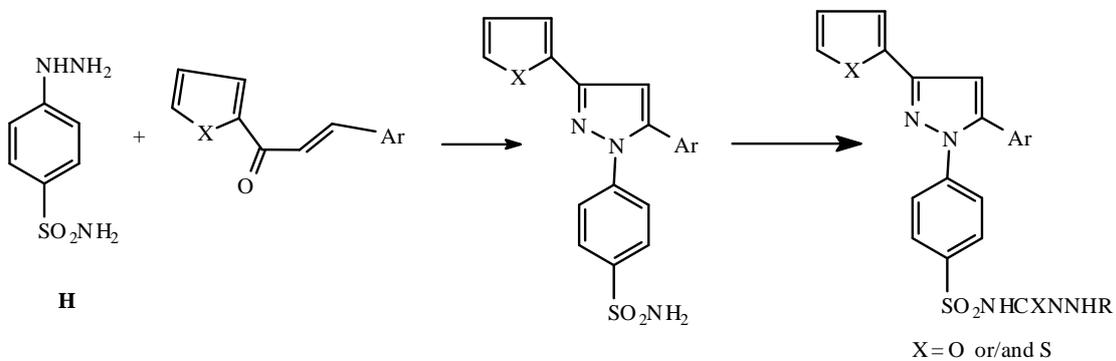
سكر الدم وتركيز الأنسولين، كذلك تم دراسة تأثير بعض مشتقات البيرازول على قدرة خلايا البنكرياس المفصولة على إفراز الأنسولين. من ناحية أخرى تم دراسة تأثير بعض مشتقات البيرازول على سكر الدم والتغير في وزن الكلي عند الفئران المصابة تجريبيا بمرض البوال السكري باستخدام مادة السترينازوتوسين. التأثير المضاد للالتهاب Inflammation : تم قياسه في الفئران وذلك عن طريق حقن مادة مسببه للالتهاب في إحدى أرجل الفأر وتحقن المادة تحت الاختبار في الغشاء البريتوني وبعد حوالي 24 ساعة يقاس وزن القدم المحقونة بالمادة المسببة للالتهاب وتقارن بالرجل التي حقنت بالسائل الضابط . النقص في زيادة وزن القدم المحقونة بالمادة المسببة للالتهاب تعني أن المادة قد يكون لها تأثير مضاد للالتهاب . التأثير المسبب للالتهاب : تم قياسه بطريقة تشبه الطريقة السابقة ولكن تحقن المادة تحت الاختبار في قدم الفأر وبعد 24 ساعة يقاس وزن القدم . الزيادة في وزن القدم تعني ان المادة قد تسبب الالتهاب .

حركة الأمعاء Intestine Motility : تم قياسها في الفئران الصائمة لفترة تتراوح بين الـ 24-48 ساعة بعدها تعطي وجبة تحتوي علي مادة دالة مثل الفحم النباتي بعد أن تحقن في الغشاء البريتوني بالمادة تحت الاختبار أو السائل الضابط وبعد وقت محدد من الوجبة يقتل الفأر ويقاس معدل سريان الوجبة المحتوية علي المادة الدالة . الزيادة في المعدل تعني أن المادة تزيد من حركة الأمعاء وبذلك قد يكون لها تأثير مسهل . بينما نقصان المعدل يعني أن المادة تقلل من حركة الأمعاء وبذلك قد يكون لها تأثير قابض .

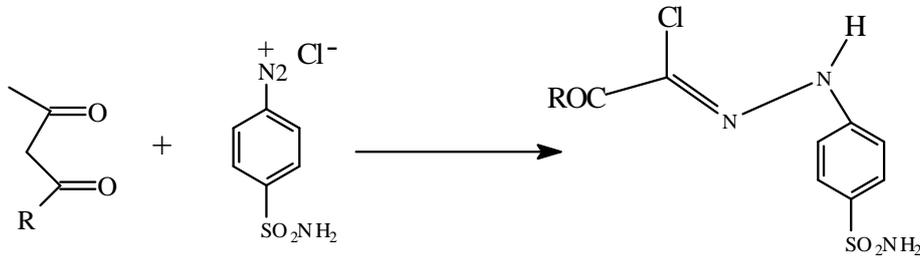
الحركة التلقائية Spontaneous Locomotion Activity : تم قياسها بوضع الفأر في وسط جديد باستخدام جهاز قياس الحركة كولمبوس ثم تقاس استجابة الفأر للوسط الجديد وتمثل مقدار المسافة التي يتحركها خلال 25 دقيقة وعدد الحركات التلقائية stereotype الزيادة في الحركة عن المعتاد تشير الي أن للمادة تأثير منبه للجهاز العصبي المركزي بينما نقصان الحركة يشير الي أن المادة قد يكون لها تأثير مثبط لجهاز العصبي المركزي مما قد يعني أن للمادة تأثير يسبب الاكتئاب أو مضاد للقلق أو مضاد للعصاب التأثير المضاد للانقباضات Ant convulsion : تم قياسه عن طريق حقن الجرذان بمادة تسبب انقباضات مثل الاستركينين علي أن تسبق بحقن المادة تحت الاختبار في الغشاء البريتوني المادة التي تحمي الجرذ من الانقباض تعتبر موجبة وقد يكون لها تأثير مضاد للصرع .

النتائج والمناقشة

ففي المحور الأول تم تشييد العديد من مشتقات البيرازول 1-19 الجديدة (شكل 1) والتي لم يسبق أحد في تشييدها من قبل . حيث تعتمد الاستراتيجية العامة لتشييد مشتقات البنزين سلفوناميل يوريا على التشييد العضوي المتعدد الخطوات الموضح بالمخطط 1 التالي.



كما تم تشييد بعض مشتقات من الهيدرازونويل كلوريد المتصلة بمجموعة السلفوناميد 20 - 22 الجديدة (شكل 1). حيث تعتمد الاستراتيجية العامة لتشييد مشتقات البنزين سلفوناميل يوريا على التشييد العضوي المتعدد الخطوات الموضح بالمخطط 2 كالتالي:



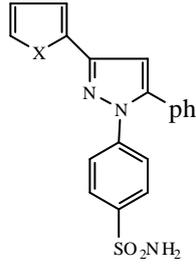
20 - 22 : R = Me, EtOOC, PhNH

2

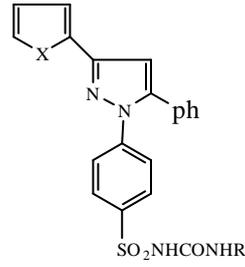
وتمت دراسات طيفية حديثة مكثفة على هذه المشتقات باستخدام التقنيات المتطورة بجهاز 1D, 2D-NMR (400MHz) للتأكد من سلامة التركيبات البنائية لها ، وذلك بعد تنقية أغلب هذه المركبات باستخدام طرق الفصل الكروماتوجرافي الحديثة.

تم اختبار تأثيرها على سكر الدم حيث الجدول 1 يوضح قائمة بالتركيب البنائي للبيرازول وتأثيرها على سكر الدم ، وكذلك يوضح المستبدلات على المواقع 1 و 4 للبنزين وكذلك المستبدلات على المواقع 1 و 3 و 4 لحلقة البيرازول . يلاحظ التغير في قدرة السلفوناميل يوريا علي خفض سكر الدم مع التغير في التركيب البنائي للمشتقات المشيدة حديثاً . وجد أن المركبات 7, 22, 2, 8, 18 ادرون علي تخفيض سكر الدم بنسب تتراوح بين 5% - 18% من قدرة المحاليل الضابطة . بينما لوحظ زيادة في سكر الدم عند حقن المشتقات 11, 12, 15, 17 10 بنسب تتراوح بين 9.3% - 23.3% ، كما أن المركبان 18 و 7 يخفضان من قدرة خلايا بيتا المنزوعة على إفراز الأنسولين . بينما لوحظ أن المركب 22 يزيد من إفراز الأنسولين . ومن ناحية أخرى وجد أن حقن المادة 7 تزيد من مستوي الأنسولين في الدم .

ولوحظ أن وزن الكلي في الفئران المصابة تجريبياً بمرض البوال السكري يقل بمقدار 6.4 % بعد حقنها بالمادة 7 ولمدة 7 أيام مقارنة بالمجموعة الضابطة (فئران مصابة بمرض البوال السكري محقونة بالمادة المذيبة) . كما وجد أن للمشتق 7 المقدرة علي خفض الزيادة في وزن الكلي تزداد بإضافة الأنسولين .

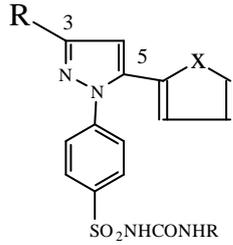


X = O, S



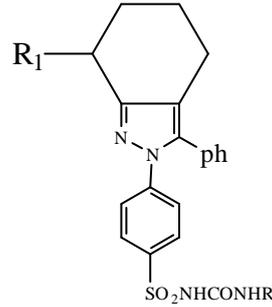
X = O, S

R = ph, CH₂Ph, CH₂CH=CH₂, Alph-naphthyl



X = O, S

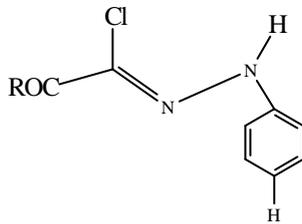
R = ph, CH₃



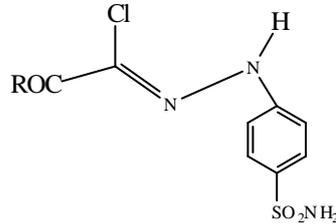
R = ph, CH₂Ph, CH₂CH=CH₂, Alph-naphthyl

R₁=H, CH₃

1 - 19



R = Me, EtOOC, PhNH

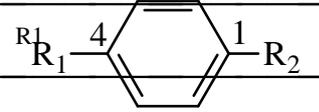
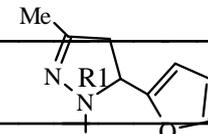
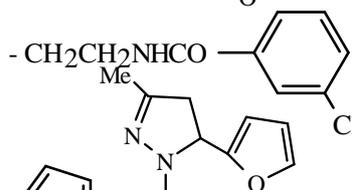
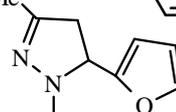
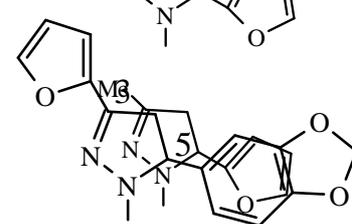
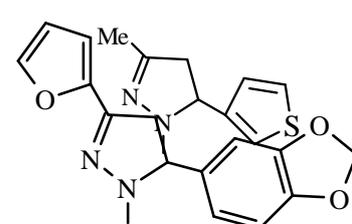
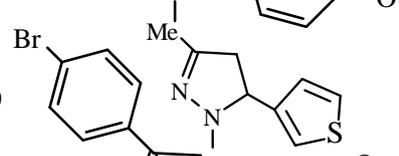
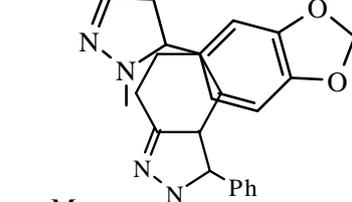
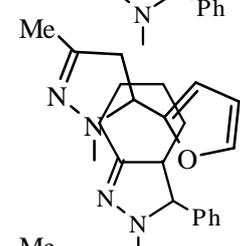
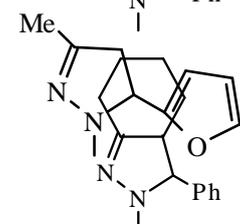
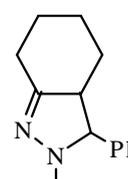


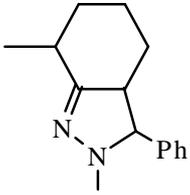
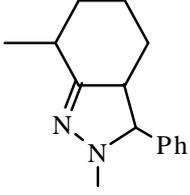
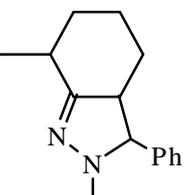
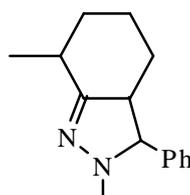
20 - 22 : R = Me, EtOOC, PhNH

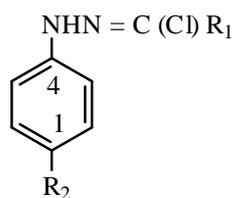
شكل 1

وعلى ضوء النتائج السابقة تم الاستنتاج بأن إضافة البيرازول R 1 المتصل بالمواقع 4 في حلقة البنزين في مشتقات البنزين سلفوناميل يوريا 1 - 19 يغير من قدرة السلفوناميل يوريا على خفض سكر الدم ، حيث طبيعة التغيير ومقداره يعتمدان على التركيب البنائي لجذالبيرازول R1 وعلى طبيعة التغيير في المجموعة R 2 المتصلة بالسلفوناميل يوريا في الموقع 1 بحلقة البنزين. بصفة عامة لوحظ أن جميع المركبات الجديدة التشبيد اقل فاعلية من الجلابينكلاميد المتداول تجاريا في القدرة على خفض سكر الدم. من ناحية أخرى لم يستطع أي من المركبات المشيدة حديثا من منع التغيرات الكلوية المبكرة و المتمثلة في الزيادة في وزن الكلي بصورة يعتد بها إحصائيا.

جدول 1 يوضح قائمة بالتركيب البنائي للمركبات وتأثيرها على سكر الدم .
تابع جدول 1

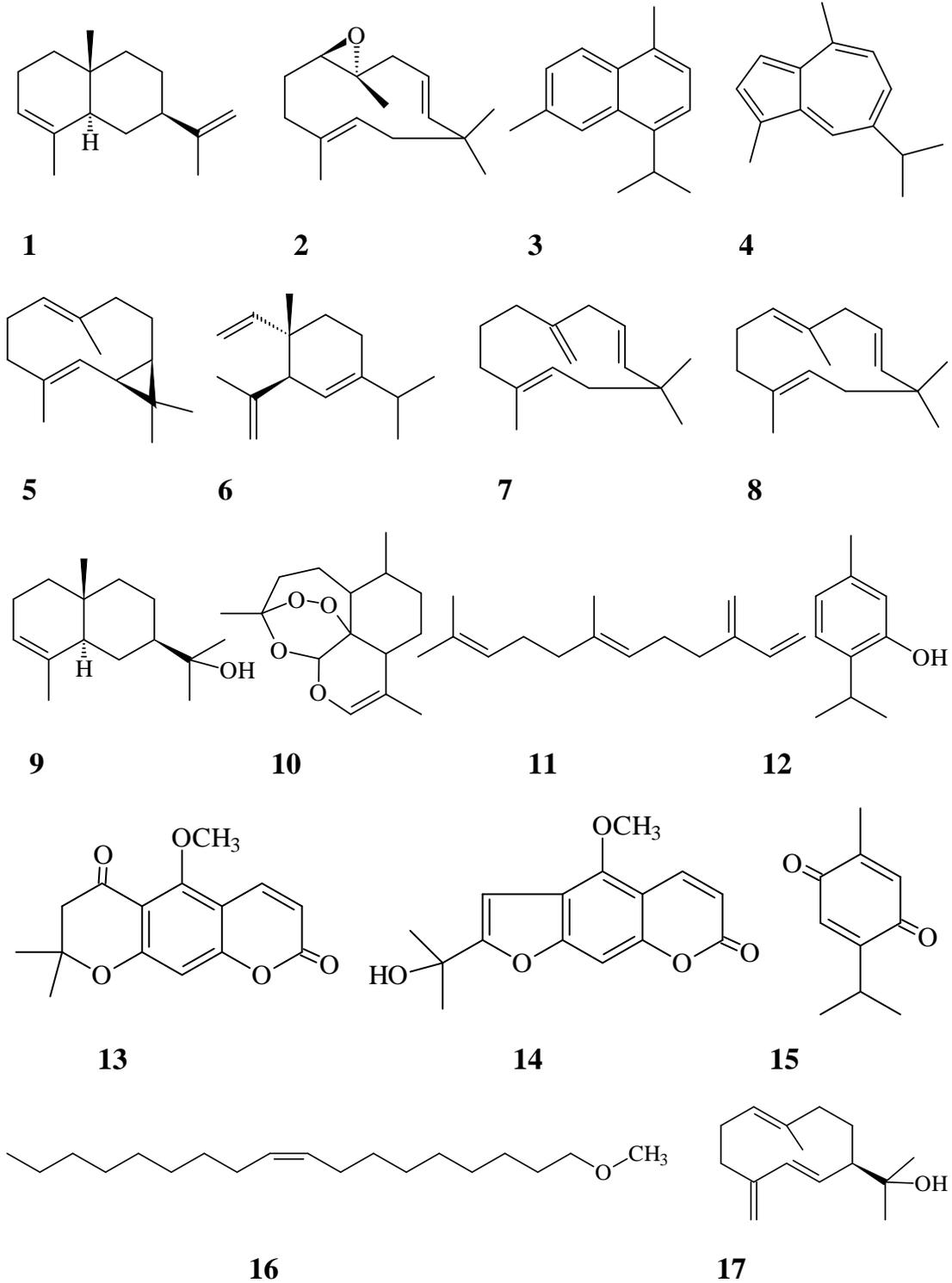
Compd. No.		R2	Effect on FBS	
Compd. No.		- CSNHCH ₂ CH = CH ₂	Effect on FBS (+) 9.6	
6		- CONHC ₆ H ₁₁	(-) 33.4	
7		- CONH-Alpha-Naphthyl	(-) 18.8	
1	8		- CONHC ₆ H ₁₁	(-) 1.80
2	9		H - CONHPh	(+) 13.8
3	10		- CONH-Alpha-Naphthyl	(+) 9.3
	11		- CSNHPh	(-) 2.00
4	12		H - CONHPh	(+) 22.8 (-) 0.50
5	14		- CSNHPh - CONHC ₆ H ₁₁	(-) 2.50 (-) 9.7
	15		- CONH-Alpha-Naphthyl	(+) 23.3

Compd. No.	R1	R2	Effect on FBS
16		H	(+) 9.9
17		- CONH α lph-Naphthyl	(+) 9.9
18		- CONHC ₆ H ₁₁	(-) 0.5
19		H	(-) 0.5



Compd. No.	R1	R2	Effect on FBS
	CH ₃ CO-	H	(+) 4.7
20	CH ₃ CO-	- SO ₂ NH ₂	(-) 6.4
21	CH ₃ CH ₂ OCO-	- SO ₂ NH ₂	(-) 15.2
22	PhNHCO-	- SO ₂ NH ₂	(-) 15.7

وما يخص المحور الثاني فتم التركيز على استخلاص الزيت الطيار من نبات الشارة (PT) بطريقة التقطير البخاري ، وتم التعرف على مكونات الزيت (الشكل 2 يوضح بعض مكونات الزيت ومكونات أخرى التي تم فصلها والتعرف عليها) بجهاز كروماتوجرافيا الغاز المتصل بجهاز الكتلة GC/MS ووسائل الفصل الكروماتوجرافيا المتنوعة.



شكل 2

أما التعرف على بقية مكونات الزيت لازالت تحت الدراسة حيث بعضها تم نشره عام 1996 [6] . كما تم التعرف على المكون الأساسي في الزيت الطيار المستخلص من نبات الشارة فوجد أنه الثايمول ، حيث تم فصله. والذي أكد صحة التعرف على أن المكون الأساسي هي حدوث تطابق بين نتائج الـ GC/MS و NMR له فصله وتنقيته مع نتائج تحاليل عينة ثايمول نقيه تم شراؤها من إحدى شركات الكيماويات العالمية. ووجدنا أن نسبة المكون الأساسي الثايمول تختلف من 50% إلى 80% تعتمد على موسم قطف النبات ونوعية التربة والمناخ وبيئة نمو النبات في الظل أو تحت الشمس مباشرة وهذه النتائج لازالت تحت الدراسة المستمرة [6]. كما أن الدراسة الأولية التي أجريت على التعرف على مكونات نبات الشارة أسفرت على فصل والتعرف على بعض المركبات الطبيعية المعروفة من قبل كما هي موضحة بالشكل 2 . كما أن بعض هذه المركبات وجد لها تأثيرات بيولوجية وطبية وبعضها تستخدم حالياً في التركيبات الدوائية لعلاج بعض الأمراض مثل أمراض البرد والملاريا وزيادة المناعة في الجسم . ولأزال البحث مستمر للتعرف على أغلب مكونات هذا النبات والصعوبات التي نواجهها في هذا النبات هي أن نسبة الماء فيه حوالي 99.5% ماء .

ونائج الدراسات الميكروبيولوجية التي أجريت على النبات [5] دلت على أن للزيت الطيار تأثير تثبيطي للنمو لبعض أنواع البكتيريا [5]، وأن المكون الأساس فيه هو كارين 3-carene [5] . ' أننا وجدنا أن المكون الأساسي هو ثايمول في الزيت الطيار وأن الدراسات الأولية دلت على أن للزيت له تأثير تثبيطي على النمو البكتيريا (*In vitro*) من نوع جرام سالب بشكل قد يزيد عن تثبيط مركب الثايمول النقي على نفس نوع البكتيريا . وقد يكون هذا التأثير القوي نتيجة تأثير خليط من تربينات أولي و/أو نصف ثلاثي يحتوي على ذرات أكسجين و/أو فينولي المتواجد في مكونات الزيت الطيار بجانب المكون الأساسي الثايمول وهذا لأزال تحت الدراسة المكثفة حالياً [6]. وقد يكون اختلاف النتائج التي حصلنا عليها عن ما تم نشره بالمرجع [5] يعود لاختلاف موقع نمو النبات و/أو تكون دقة النتائج التي توصلنا إليها تعود إلى استخدامنا للأجهزة الحديثة حيث خلال الثمانينات كانت لازالت أجهزة GC/MS ليست بكفاءة الأجهزة المتطورة الحالية.

وتم إجراء المسح الفارماكولوجي على الزيت المستخلص من النبات في فترة احتواءه علي أعلى نسبة ثايمول حوالي 80% وذلك بعد عمل التحاليل الكروماتوجرافيا ، حيث لوحظ أن الـ LD50 للزيت هي 0.90 جم /كجم بعد 72 ساعة من الحقن في الغشاء البريتوني ، كما لوحظ أن للمادة تأثير مسكن للألم – ولكن لم يلاحظ تأثير مضاد للالتهاب عند حقن مقدار الجرعة السابقة . ووجد أن للزيت عند الجرعة 0.14 جم / كجم يزيد قليلاً من حركة الأمعاء بمقدار 7.1% مقارنة بتلك المجموعة الضابطة. ووجد عموماً للزيت الطيار أنه يقلل من الحركة التلقائية للفئران بمقدار يتراوح بين 51.5-58.7% مقارنة بالمجموعة الضابطة . كما لوحظ أن للزيت تأثير فعال ويعتد به إحصائياً في منع الانقباضات الناتجة من حقن الفئران بمادة بتسليين نترازويل . وبذلك يمكن استنتاج أن الزيت الطيار لنبات الشارة قد يكون ذو فائدة سريرية كمهدي أو في علاج بعض حالات الصرع .

الخلاصة

بالنظر الي شيوع مرض البوال السكري في المجتمع السعودي . فإن مزيداً من المحاولات في هذا المجال ربما ينتج عنها اكتشاف مواد قادرة علي خفض سكر الدم أضافه الي قدرتها علي منع مضاعفات مرض البوال السكري ، وبالرغم من حصولنا على نتائج لم ترقى لفاعلية الدواء الجلابينكلاميد A في هذا البحث (المرحلة الأولى والثانية)، إلا أن الاستمرارية في تشييد المزيد من هذه المشتقات التي تتشابه الي حد ما للتركيب البنائي للدواء A قد نصل للهدف المنشود . كما نوصي بضرورة الاستمرارية في الكشف عن الموارد الفعالة في النباتات البرية للوصول لي تركيبات نباتية طبيعية يمكن استخدامها كدواء طبيعي في المستقبل ، وتشجيع استمرارية التعاون البحثي بين الأقسام العلمية المتخصصة تعمل على رقي مستوي البحث العلمي بجامعة الملك عبد العزيز .

شكر وتقدير

نقدم عرفاننا بالجميل اتجاه تدعيم جامعة الملك عبد العزيز الممثلة بإدارة البحث العلمي للجزء الخاص بالمحور الأول فقط والخاص بتشييد العديد من مشتقات البيرازول ودراستها من النواحي الفارماكولوجية بالمشروع

. 418/158 و 415/032

المراجع

- [1] "the Loss of Rare and Endangered Plants", Sheila Collenette, J. Saudi Arabian Nat. Hist. Soc., 2(9), 10-13 (1989).
- [2] (a) Basaif S. A., Albar H. A. and Faidallah H. M., Indian J. of Heterocyclic Chem., 5 (2), 121-124 (1995); (b) Faid-Allah H. M. and Mokhtar H. M., Indian J. of chemistry, 27B, 245 (1988); (c) Reitz D. B. and Isakson P. C., Curr. Pharm. Des., 1, 211 (1995); (d) Albar H. A., Makki M. S. I. And Faidallah H. M., J. Chem. Research (s), 40 (1997).
- [3] J. J. Talley, J. D. Rogier, D. T., Jr. Penning, S. S. Wu PCT Int. APPL. OO95 15.31808 Jun. 1995 US APPL. 160, 517, 30 Nob 1993 [Chem. Abst. : 123, 313952a (1995)].
- [4] Smith R. M., Bahaffi S.O. and Albar H. A., J. Essent. Oil Res., 8, 447-448 (1996).
- [5] Al-Yahya M. A., Hifnawy M. S., Mossa J. S. and Al-Meshal I. A., Proc. Saudi Bio. Soc., 8, 147 (1985).
- [6] Albar H. A., Unpublished results.