آب

آب فراوانترین ماده موجود در سیستم های بیولوژیک بوده و حدود ۷۰٪ یا بیشتر وزن اکثر موجودات را تشکیل می دهد . بدون شک ، اولین موجودات زنده در محیط آبی ظاهر شده و دوره تکاملی آنها با توجه به ویژگی های محیط آبی شکل گرفته است که در آن زندگی آغاز گردید .

این فصل با شرحی بر ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی آب آغاز می گردد که تمامی خصوصیات ساختمان و عملی سلولی با آنها منطبق شده است .

نیروهای جاذبه بین ملکول های آب و تمایل ناچیز آب در یونیزاسیون ، اهمیت حیاتی برای ساختمان و عملکرد بیوملکول ها دارد . در اینجا مروری بر موضوع یونیزاسیون به شکل ثابت های تعادلی PH و منحنی های تیتراسیون شده و نحوه عمل محلول های آبی اسید ها یا بازهای ضعیف به همراه املاح مربوطه در ایفا نقش بافری در برابر تغییرات PH سیستم های بیولوژیک ، مورد بررسی قرار می گیرد . ملکول آب و محصولات یونیزاسیون آن ، یعنی H^+ و CH^- اثر عمیقی بر ساختمان ، خود – همایش و ویژگی های تمامی اجزاء سلولی ، شامل پروتئین ها ، اسید های نوکلئیک و لیپیدها دارند . به طور قطع خصوصیات آب به عنوان حلال ، بر روی واکنش های متقابل غیر کووالان بین ملکول ها تاثیر داشته که خود در ایجاد قدرت و ویژگی « شناسایی » ماکروملکول ها موثر است .

واکنش های ضعیف در سیستم های آبی

پیوند های هیدروژنی بین ملکول های آب ، نیروهای چسبنده ای را فراهم می آورند که آب را در دمای اتاق مایع نگه داشته و نظم فوق العاده ای به این ملکول در شکل کریستالی آب (یخ) می دهند . بر عکس ، بیوملکول های غیر قطبی با واکنش های متقابل آب – آب تداخل نموده ولی نمی توانند واکنش های متقابل آب – ماده حل شده را ایجاد نمایند ، ملکول های غیر قطبی دارای حلالیت ضعیفی در آب می باشند . در محلول های آبی ، ملکول های غیر قطبی تمایل دارند که به شکل دسته ای در کنار یکدیگر قرار گیرند .

پیوند های هیدروژنی و واکنش های متقابل آبگریز و واندروالس ، به تنهایی ضعیف هستند ولی با یکدیگر اثر بسیار مهمی بر روی ساختمان های سه بعدی پروتئین ها ، اسید ها نوکلئیک ، پلی ساکارید ها و لیپیدهای غشایی ایجاد می نمایند .

پیوندهای هیدروژنی منجر به ویژگی های غیر معمول می گردند

در مقایسه با سایر حلال های معمول ، آب دارای نقطه ذوب ، نقطه جوش و گرمای تبخیر ، بیشتری است . این ویژگی های غیر معمول ، نتیجه جاذبه های موجود در بین ملکول های آب مجاور می باشد که چسبندگی داخلی زیادی در آب مایع ایجاد می نمایند .

هر اتم هیدروژن موجود در یک ملکول آب ، یک جفت الکترون با اتم اکسیژن به اشتراک می گذارد هسته ملکول آب بر اساس اشکال اربیتال های خارجی اتم اکسیژن مشخص می گردد که مشابه اربیتال های پیوندی در کربن می باشد . این اربیتال ها یک چهار وجهی تقریبی را نشان می دهند که در هر کدام از دو گوشه آن ، یک اتم هیدروژن قرار گرفته و در هر کدام از دو گوشه دیگر ، یک جفت الکترونی به اشتراک گذاشته نشده وجود دارد . به خاطر

ازدحام اربیتال های غیر پیوندی اتم اکسیژن ، زاویه پیوند H-O-H برابر ° ۱۰۴/۵ بود که قدری از ° ۱۰۹/۵ یک چهار وجهی کامل کمتر است .

هسته اکسیژن ، الکترون ها را قویتر از هسته هیدروژن (یک پروتون) جذب می نماید ؛ اکسیژن الکترونگاتیوتر است . از اینرو ، اشتراک الکترون ها بین H , O نابرابر بوده و الکترون ها بیشتر در نزدیکی اتم اکسیژن قرار دارند تا هیدروژن . نتیجه این جفت شدن نابرابر الکترونی ، ایجاد دو دو قطبی الکتریکی در مولکول آب یکی در طول هر پیوند H-O می باشد ؛ اتم اکسیژن دارای یک بار منفی نسبی (- ۲ δ) بوده و هر هیدروژن یک بارنسبی مثبت (+ δ) خواهد داشت . در نتیجه ، جاذبه الکترواستاتیکی ، به نام هیدروژنی ، بین اتم اکسیژن یک ملکول آب و اتم هیدروژن ملکول دیگر ایجاد می گردد . در سراسر این کتاب ، پیوندهی هیدروژنی با خطوط موازی ، همانند شکل c ۱-۴ مشخص می گردند .

پیوندهای هیدروژنی از پیوندهای کووالان ضعیف تر می باشند . پیوندهای هیدروژنی در محیط آب مایع دارای یک انرژی تجزیه پیوند (انرژی مورد نیاز برای شکستن یک پیوند) حدود ۲۰ kJ/mol در مقایسه با ۳۴۸ kJ/mol برای پیوندهای کووالان C-C است . در حرارت اتاق ، انرژی حرارتی یک محلول آبی (انرژی کینتیک حرکت اتهم ها و ملکول های مجزا) به همان بزرگی انرژی مورد نیاز برای شکستن پیوند های هیدروژنی است . وقتی آب حرارت دده می شود ، افزایش درجه حرارت خود را به صورت حرکت سریعتر ملکول های مجزا آب نشان می دهد .

هر چند در هر زمان خاص ، اکثر ملکول های موجود در آب مایع در پیوند هیدروژنی درگیر بوده و عمر هر پیوند هیدروژنی کمتر از $1*10^{-9}s$ می باشد . برای ملکول های دارای پیوند هیدروژنی موجود در آب ، از عبارت مناسب « دسته های در حال تولید و نابودی » استفاده می گردد که نیمه عمر کوتاهی دارند . با این وجود ، جمع تمامی پیوندهای هیدروژنی موجود در بین ملکول های آب ، سبب چسبندگی داخلی بالا در آب مایع می گردد .

آرایش تقریباً چهار وجهی اربیتال ها حول اتم اکسیژن (شکل ۱a-۴) این امکان را فراهم می سازد که هر ملکول آب بتواند با چهار ملکول آب مجاور ایجاد پیوند هیدروژنی نماید . هر چند ، در آب مایع ، در حرارت اتاق و فشار اتمسفر ، هر ملکول آب در حرکت مداوم بوده که سبب از دست رفتن سازماندهی آن می شود ، لذا به طور متوسط هر ملکول آب تنها با ۳/۴ ملکول آب دیگر ایجاد پیوند هیدروژنی می نماید . از طرفی دیگر ، در یخ ، هر ملکول آب در موقعیت ثابتی قرار داشته و با ایجاد پیوند هیدروژنی با چهار ملکول آب دیگر ، یک ساختمان شبکه ای منظم ایجاد می کند . برای شکستن تعداد کافی پیوند های هیدروژنی برای ناپایدار نمودن شبکه کریستالی یخ ، نیاز به انرژی حرارتی زیادی است که علت نقطه ذوب نسبتا بالای آب (جدول ۱-۴) می باشد . وقتی یخ ذوب می شود و یا آب تبخیر می گردد ، سیستم حرارت می گیرد :

$$H_2O(s) \rightarrow H_2O(l) \qquad \Delta H = +5.9kJ/mol$$
$$H_2O(l) \rightarrow H_2O(g) \qquad \Delta H = +44.0kJ/mol$$

در هنگام ذوب و تبخیر ، هر چند دسته های شدیداً منظم ملکول های آب به شکل دسته های دارای پیوند های هیدروژنی با نظم کمتر یا به حالت گازی کاملا نامنظم تبدیل گردد ، آنتروپی سیستم آبی افزایش می یابد . در حرارت اتاق ، هم ذوب شدن یخ و هم تبخیر آب به طور خود بخودی رخ می دهد ؛ فشار انرژتیک به سمت بی نظمی بر تمایل

ملکول های آب برای ایجاد پیوند های هیدروژنی غلبه می نماید . همانطور که اشاره گردید ، برای انجام خود بخودی یک فرایند ، لازم است تغییر انرژی آزاد (ΔG) آن منفی باشد : $\Delta G=\Delta H-T\Delta S$ که در آن ΔG نیروی محرک ، ΔH تغییر آنتالپی حاصل از ایجاد و شکسته شدن پیوندها و ΔS تغییر در بی نظمی است . از آنجایی که ، ΔH برای ذوب شدن و تبخیر مثبت است ، واضح است که افزایش آنتروپی (ΔS) سبب منفی شدن ΔG وانجام این تغییرات می گردد .

آب با مواد حل شده قطبی ایجاد پیوندهای هیدروژنی می نماید

پیوندهای هیدروژنی منحصر به آب نمی باشد . این پیوندها به راحتی بین یک اتم الکترونگاتیو (گیرنده هیدروژن ، معمولا اکسیژن یا نیتروژن دارای یک جفت الکترونی تنها) و اتم هیدروژنی ایجاد می گردند که با پیوند کووالان به اتم الکترونگاتیو دیگر (دهنده هیدروژن) در همان ملکول و یا ملکول دیگر ، اتصال دارد (شکل ۳-۴) . اتم های هیدروژنی که به طور کووالان به اتم های کربن (که الکترونگاتیو نمی باشند) متصل هستند ، در ایجاد پیوند های هیدروژنی شکرت نمی کنند . این تفاوت توجیه می نماید که چرا بوتانل $(CH_3(CH_2)_2CH_2OH)$ دارای نقطه ذوب نسبتا بالای ۱۱۷ $^\circ$ C بوده ، در حالیکه نقطه ذوب بوتان$(CH_3(CH_2)_2CH_2)$ تنها ۰/۵ $^\circ$ C – می باشد .

بیوملکول های قطبی ولی غیر یونیزه ، براحتی در آب حل می شوند که علت آن اثر پایدارکنندگی پیوندهای هیدروژنی بین گروه های هیدروکسیل با اتم اکسیژن کربونیل قند و ملکول های قطبی آب است . الکل ها کتون ها و ترکیبات حاوی پیوندهای N-H همگی با ملکول های آب ایجاد پیوندهای هیدروژنی نموده (شکل ۴-۴) و در آب محلول می باشند .

وقتی ملکول های اتصال یافته به طریقی قرار می گیرند که واکنش متقابل الکترواستاتیک به حداکثر خود می رسد ، پیوندهای هیدروژنی بیشترین قدرت را دارند ؛ این حالت زمانی رخ می دهد که اتم هیدروژن و دو اتمی که آن را به اشتراک دارند ، در خط مستقیم قرار گیرند و یا به عبارتی دیگر ، اتم گیرنده در خط پیوند کووالان بین اتم دهنده و H باشد (شکل ۵-۴) .

بنابراین پیوندهای هیدروژنی کاملا جهت دار بوده و می توانند دو ملکول یا دو گروه را در یک آرایش هندسی اختصاص نگه دارند . همانطور که بعداً خواهیم دید ، این خاصیت پیوندهای هیدروژنی سبب ایجاد ساختمان های سه بعدی بسیار دقیق ملکول های پروتئین یا اسید نوکلئیک می گردد که پیوندهای هیدروژنی داخل ملکولی زیادی دارند .

آب با مواد حل شده باردار به طریق الکترواستاتیک واکنش می نماید

آب یک حلال قطبی است . این حلال براحتی اکثر بیوملکول هایی را حل می نماید که عموماً ترکیبات قطبی یا باردار می باشند (جدول ۲-۴) .

ترکیباتی که به راحتی در آب حل می شوند را هیدروفیل (کلمه یونانی به معنی « آبدوست ») می نامند . برعکس ، حلال های غیر قطبی ، نظیر کلروفورم و بنزن ، حلال های ضعیفی برای بیوملکول های قطبی بوده ولی به راحتی ملکول های هیدروفوبیک (آبگریز) یا غیر قطبی ، نظیر لیپیدها و موم ها ، را در خود حل می نمایند .

املاحی نظیر NaCl در آب حل می شوند ؛ آب با هیدراته و تثبیت نمودن یون های Na^+ و Cl^- واکنش های متقابل الکترو استاتیک موجود در بین آنها را تضعیف کرده و بنابراین مانع از هم به پیوستن مجدد آنها و ایجاد یک شبکه کریستالی می گردد (شکل ۶-۴) .

همین عوامل در مورد بیوملکول های باردار ، ترکیباتی با گروه های عامل نظیر اسیدهای کربوکسیلیک یونیزه (COO^-) آمین های پروتونه ($-NH3^+$) و استرهای فسفات یا انیدریدها ، کاربرد دارند . آب با جایگزینی پیوند های هیدروژنی موجود در بین ملکول های ماده حل شده با پیوندهای هیدروژنی بین ماده حل شده و آب و بنابراین برداشت واکنش های الکترواستاتیک موجود در بین ملکول های مواد حل شده ، براحتی این مواد را حل می نماید .

به خاطر داشتن ثابت دی الکتریک بالا (یک خصوصیت فیزیکی که تعداد دو قطبی ها یا دی پول های یک حلال را نشان می دهد) ملکول های آب به خصوص برداشت واکنش های متقابل الکترواستاتیک بین یون های حل شده موثر می باشد . قدرت یا نیروی (F) واکنش های متقابل یونی در یک محلول بستگی به بزرگی بارها (Q) فاصله بین گروههای باردار (r) و ثابت دی الکتریک (ε) حلالی که در آن واکنش های متقابل رخ می دهد ، دارد :

$$F = \frac{Q1Q_2}{\varepsilon r^2}$$

برای آب در $25\ ^\circ C$ ، میزان ε (که فاقد واحد است) برابر ۷۸/۵ و برای حلال بسیار غیر قطبی بنزن ، برابر ۴/۶ می باشد . بنابراین ، واکنش های متقابل یونی در محیط های کمتر قطبی ، بسیار قویتر می باشد . وابستگی به r^2 طوری است که جاذبه ها و دافعه های یونی تنها در فواصل کوتاهی (در دامنه ۱۰ تا ۴۰ nm بر حسب غلظت الکترولیت ، و زمانیکه آب به عنوان حلال است) موثر می باشند.

با حل شدن مواد کریستالی آنتروپی افزایش می یابد

وقتی نمکی نظیر NaCl در آب حل می شود ، یون های Na^+ , Cl^- که از شبکه کریستالی جدا می گردند ، آزادی حرکت بسیار بیشتری پیدا می نمایند (شکل ۶-۴) .افزایش آنتروپی (بی نظمی) حاصل در سیستم ، بیشترین نقش را در سادگی انحلال املاحی نظیر NaCl در آب دارد . طبق اصول ترمودینامیک ، تشکیل محلول همراه با تغییر مساعدی در انرژی آزاد می باشد ؛ $\Delta G=\Delta H-T\Delta S$ که در آن ΔH دارای مقدار مثبت کوچکی بوده و $T\Delta S$ میزان مثبت بزرگی است ؛ بنابراین ΔG منفی می باشد .

گازهای غیر قطبی در آب حلالیت ضعیفی دارند

ملکول گازهای مهم بیولوژیک CO_2 , O_2 , N_2 غیر قطبی می باشند . در N_2,O_2 الکترون ها به طور مساوی توسط هر اتم به اشتراک گذاشته شده اند . در CO_2 هر پیوند C=O قطبی بوده ولی این دو دو قطبی در دو جهت مخالف قرار داشته و اثر یکدیگر را خنثی می نمایند (جدول ۳-۴) .

حرکت ملکول ها از فاز گازی نامنظم به محلول آبی ، حرکت این ملکول ها و حرکت ملکول های آب را محدود نموده و بنابراین سبب کاهش آنتروپی می گردد . ماهیت غیر قطبی این گازها و کاهش آنتروپی با ورود آنها به محلول ، مجموعا حلالیت این ملکول های گازی را در آب بسیار ضعیف می نماید (جدول ۳-۴) .

بعضی از موجودات دارای پروتئین های ناقل محلول در آب (برای مثال ، هموگلوبین و میوگلوبین) هستند که انتقال O_2 را تسهیل می کنند . دی اکسید کربن در محلول آبی ایجاد اسید کربنیک (H_2CO_3) نموده و به شکل یون

$HCO3^-$ (بیکربنات) یا به صورت آزاد (بیکربنات در آب بسیار محلول است ؛ حدود g/L ۱۰۰ در C° ۲۵) یا متصل به هموگلوبین ، انتقال می یابد .

دو گاز دیگر ، یعنی H_2S , NH_3 در بعضی از موجودات دارای اعمال بیولوژیکی هستند ؛ این گازها قطبی بوده و به راحتی در آب حل می گردند .

ترکیبات غیر قطبی سبب تغییراتی در ساختمان آب می گردند که از نظر انرژتیک مساعد نمی باشند

وقتی آب با بنزن یا هگزان مخلوط می گردد ، دو فاز تشکیل می دهند ؛ هیچکدام از مایعات در دیگری حل نمی شود . ترکیبات غیر قطبی ، نظیر بنزن و هگزان ، آبگریز می باشند ؛ این ترکیبات نمی توانند واکنش های متقابلی را با ملکول های آب ایجاد کنند که از نظر انرژتیک مساعد باشند ، و در واقع با پیوند های هیدروژنی موجود در بین ملکول های آب ایجاد تداخل می نمایند . تمامی ملکول ها و یون های موجود در محلول آبی با پیوند هیدروژنی بعضی از ملکول های آب موجود در مجاورت خود تداخل نموده ، ولی مواد حل شده قطبی یا باردار (نظیر NaCl) با ایجاد واکنش های متقابل جدید بین ماده حل شده و آب ، از دست رفتن پیوند های هیدروژنی موجود در بین ملکول های آب را جبران می نمایند .

تغییر خالص آنتالپی (ΔH) حل شدن این مواد ، عموما کوچک می باشد . هر چند مواد حل شده آبگریز ، سبب چنین جبرانی نشده و بنابراین افزودن آنها به آب ممکن است منجر به افزایش کوچک آنتالپی گردد ، شکسته شدن پیوند های هیدروژنی بین ملکول های آب ، از سیستم انرژی می گیرد . از اینرو ، انحلال ترکیبات آبگریز در آب سبب کاهش قابل اندازه گیری در آنتروپی می شود . ملکول های آب موجود در مجاورت یک ماده حل شده غیر قطبی ، از نظر اتخاذ موقعیتهای ممکن تحت فشار بوده و ایجاد یک شبکه قفس مانند شدیداً منظم در اطراف هر ملکول حل شده می نمایند . این ملکول های آب از نظم فوق العاده موجود در مولکول های ترکیب کریستالی یک ماده غیر قطبی حل شده و آب (یک کلاترات) برخوردار نبوده ولی اثر در هر دو حالت یکسان می باشد : منظم شدن ملکول های آب ، سبب کاهش آنتروپی می گردد . تعداد ملکول های منظم شده آب و بنابراین بزرگی کاهش آنتروپی ، متناسب با وسعت ناحیه ای از ماده حل شده آبگریزی است که توسط قفس ملکول های آب در بر گرفته می شود . بنابراین ، تغییر انرژی آزاد برای انحلال یک ماده حل شده غیر قطبی در آب ، نامساعد می باشد : $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ که در آن ΔH دارای مقدار مثبت ، ΔS دارای مقدار منفی و ΔG مثبت است .

ترکیبات دو گانه دوست در ساختمان خود دارای هر دو ناحیه قطبی (باردار) و غیر قطبی می باشند (جدول ۲-۴) . وقتی یک ترکیب دو گانه دوست با آب مخلوط می گردد ، ناحیه قطبی آبدوست با حلال واکنش نموده و تمایل به انحلال داشته ، ولی ناحیه غیر قطبی آبگریز از تماس با آب اجتناب می نماید (شکل a ۷-۴) .

نواحی غیر قطبی این ملکول ها با یکدیگر ایجاد دستجاتی به شکل کوچکترین ناحیه آبگریز در حلال آبی می نمایند و نواحی قطبی طوری آرایش یافته تا واکنش های متقابل آن با حلال به حداکثر برسد (شکل b ۷-۴) .

این ساختمان های پایدار ترکیبات دو گانه دوست در آب را میسل گویند و ممکن است حاوی صدها یا هزاران مولکول باشند . نیروهایی که نواحی غیر قطبی مولکول ها را در کنار یکدیگر قرار می دهند ، واکنش های متقابل آبگریز گویند . قدرت واکنش های متقابل آبگریز ، به خاطر جاذبه داخلی بین قسمتهای غیر قطبی نمی باشد . بلکه ،

این واکنش ها ناشی از رسیدن سیستم به بیشترین پایداری ترمودینامیکی با به حداقل رساندن تعداد ملکول های آب منظم مورد نیاز برای احاطه قسمتهای آبگریز مولکول های حل شده ، می باشد .

بسیاری از بیوملکول های دو گانه دوست هستند ؛ پروتئین ها ، رنگدانه ها ، بعضی ویتامینها و استرولها و فسفولیپیدهای غشاء ها ، همگی دارای سطوح قطبی و غیر قطبی می باشند . ساختمان های متشکل از این ملکول ها توسط واکنش های متقابل آبگریز در بین نواحی غیر قطبی پایدار می شوند . واکنش های آبگریز موجود در بین لیپیدها و همچنین بین لیپیدها و پروتئین ها ، مهمترین شاخص های ساختمانی در غشاء های بیولوژیک می باشند . واکنش های متقابل آبگریز موجود در بین اسید های آمینه غیر قطبی نیز سبب پایداری الگوهای تا شدن سه بعدی پروتئین می گردند .

پیوند هیدروژنی موجود در بین ملکول های آب و ماده حل شده نیز مقداری نظم در ملکول های آب ایجاد می نماید ، ولی این اثر دارای اهمیت کمتری نسبت به مواد حل شده غیر قطبی است . قسمتی از نیروهای پیش برنده اتصال یک سروبسترا قطبی (واکنشگر) به سطح قبلی مکمل یک آنزیم ، افزایش آنتروپی ناشی از جایگزینی آنزیم بجای ملکول های منظم آب موجود در اطراف سوبسترا می باشد (شکل ۸-۴) .

واکنش های متقابل و اندروالس ، جاذبه های ضعیف بین اتمی هستند

وقتی دو اتم بدون بار در نزدیکی یکدیگر قرار می گیرند ، تغییرات تصادفی در موقعیت الکترون ها حول یک هسته ممکن است یک دو قطبی موقتی را ایجاد نماید که سبب القاء یک دو قطبی الکتریکی مخالف موقتی در اتم مجاور شود . این دو دو قطبی یکدیگر را به طور ضعیفی جذب نموده و دو هسته را نزدیک تر می نمایند . این جاذبه های ضعیف را واکنش های متقابل و اندوروالس گویند . وقتی دو هسته به یکدیگر نزدیک تر می گردند ، ابرهای الکترونی آنها شروع به دفع یکدیگر می نمایند . در نقطه ای که جاذبه و اندروالسی دقیقا با نیروی دافعه متعادل می باشد ، گفته می شود که هسته ها در تماس واندروالس می باشند . هر اتم دارای یک شعاع و اندروالس مشخصی است که نشان می دهد اتم دیگر به چه اندازه می تواند نزدیک آن اتم گردد (جدول ۱-۳ را ببینید) .

واکنش های ضعیف نقش مهمی در ساختمان و عمل ماکروملکولی دارند

واکنش های متقابل غیر کووالان شرح داده شده (پیوند های هیدروژنی و واکنش های متقابل یونی ، آبگریز و اندروالس) (جدول ۴- ۴) بسیار ضعیف تر از پیوند های کووالان می باشند . برای شکستن یک مول ($۶ * ۱۰^{۲۳}$) پیوند یگانه C-C نیاز به حدود ۳۵۰ KJ و برای شکستن یک مول پیوند C-H نیاز به ۴۱۰ KJ انرژی می باشد ولی این میزان برای شکستن یک مول واکنش متقابل آبگریز بسیار ضعیف تر از پیوند های کووالان می باشند ، هر چند این پیوندها اساساً توسط یک حلال شدیدا قطبی (مثلا یک محلول نمکی غلیظ) تقویت می گردند . بر حسب طقبیت خلال ، واکنش های متقابل یونی و پیوندهای هیدروژنی از نظر قدرت متفاوت می باشند ، ولی همیشه از پیوند های کووالان به مراتب ضعیفتر هستند . در حلال آبی و در $۲۵^{\circ} C$ انرژی حرارتی قابل دسترسی می تواند به همان بزرگی قدرت این واکنش های متقابل ضعیف بوده و واکنش متقابل بین حلال (آب) و ماده حل شده تقریبا به اندازه واکنش های متقابل بین مولکول های ماده حل شده مساعد می باشد . در نتیجه ، پیوندهای هیدروژنی و واکنش های متقابل یونی ، آبگریز و اندروالس به طور دائمی در حال تشکیل و شکسته شدن می باشند .

با وجود اینکه این چهار نوع واکنش متقابل به تنهایی در مقایسه با پیوندهای کووالان ضعیف می باشند ، اثر جمعی تعداد زیادی از این نوع واکنش های متقابل با یک پروتئین یا اسید نوکلئیک می تواند بسیار قابل توجه باشد . برای مثال ، اتصال غیر کووالان یک آنزیم به سوبسترا خود ممکن است توسط چندین پیوند هیدروژنی و یا چند واکنش متقابل یونی و همچنین واکنش های متقابل آبگریز و اندروالس ، به انجام برسد . تشکیل هر کدام از این پیوندهای ضعیف همراه با کاهش مشخصی در انرژی آزاد سیستم می باشد . پایداری کی واکنش متقابل غیر کووالان ، نظیر واکنش متقابل غیر کووالانی که در آن یک مولکول کوچک با پیوند های هیدروژنی به جفت ماکرومولکولی خود اتصال می یابد ، از انرژی اتصالی قابل محاسبه می باشد . پایداری که توسط ثابت تعادل (قسمت پایین را ببینید) واکنش اتصالی اندازه گیری می شود ، به طور تصاعدی با انرژی اتصالی تغییر می نماید . تفکیک دو ملکولی که توسط واکنش های متقابل ضعیف غیر کووالان به یکدیگر متصل شده اند (مثل اتصال آنزیم و سوبسترا) نیاز به از بین رفتم تمامی این واکنش تمامی این واکنش های متقابل در یک زمان دارد . از آنجایی که این واکنش های متقابل به طور اتفاقی دستخوش تغییر می گردند ، چنین عمل همزمانی بسیار غیر محتمل می باشد . بنابراین ، پایداری مولکولی حاصل از ۲ یا ۵ یا ۲۰ واکنش متقابل ضعیف ، بسیار بیشتر از میزان مورد انتظار برای جمع ساده انرژی های اتصالی کوچک می باشد . ماکروملکول ها ، نظیر پروتئین ها DNA , RNA دارای جایگاه های متعدد زیادی جهت ایجاد پیوند های هیدروژنی و واکنش های متقابل یونی ، آبگریز و اندروالس بوده و اثر جمعی این نیروهای متعدد اتصالی کوچ ، بیشتر می باشد . برای ماکروملکول ها ، پایدارترین ساختمان (شکل طبیعی) حالتی است که در آن احتمال ایجاد پیوند های ضعیف حداکثر می باشد . تا شدن یک زنجیر پلی پپتیدی یا پلی نوکلئوتیدی واحد به شکل ساختمان سه بعدی خود ، با این اصل تعیین می گردد . اتصال یک آنتی ژن به یک آنتی بادی اختصاص بستگی به اثرات جمعی بسیاری از واکنش های متقابل ضعیف دارد . همانطور که در ابتدا اشاره گردید ، انرژی حاصل از اتصال غیر کووالان آنزیم به سوبسترا ، منبع اصلی قدرت کاتالیتیکی آنزیم می باشد . اتصال یک هورمون یا نوروترانسمیتر به پروتئین گیرنده سلولی خود ، نتیجه واکنش های متقابل ضعیف است . یکی از نتایج اندازه بزرگ آنزیم ها و گیرنده ها این است که سطح زیادی را برای ایجاد فرصت های متعدد جهت واکنش های ضعیف فراهم می سازد . در سطح ملکولی مکمل بودن بیوملکول های واکنش دهنده انعکاسی از مکمل بودن واکنش های متقابل گروههای قطبی ، باردار ، و آبگریز موجود در سطح این ملکول ها می باشد .

مواد حل شده بر روی ویژگی های کولیگاتیو محلول های آبی اثر دارند

مواد حل شده از انواع مختلف سبب تغییر بعضی از ویژگی های فیزیکی حلال (آب) شامل فشار بخار ، نقطه تبخیر ، نقطه ذوب (نقطه انجماد) و فشار اسموتیک ، می گردد . مجموعا به این ویژگی ها خواص کولیگاتیو (« به یکدیگر گره خورده») گفته می شود ، زیرا اثر ماده حل شده برای هر چهار خصوصیت ، اساس یکسانی دارد ؛ غلظت آب در محلول کمتر از آب خالص می باشد . اثر غلظت ماده حل شده بر روی خواص کولیگاتیو آب مستقل از ویژگی های شیمیایی ماده حل شده بود و تنها بستگی به تعداد ذرات ماده حل شده (ملکول ها ، یون ها) در مقدار مشخصی از آب

دارد . برای مثال ، ترکیبی مانند NaCl که در داخل محلول تفکیک می شود ، در مقایسه با تعداد مولهای برابر ماده غیر تفکیک مثل گلوکز ، دارای اثر دو برابر بر روی فشار اسموتیک می باشد .

مواد حل شده با کاهش غلظت موثر آب ، سبب تغییر خواص کولیگانیو محلول های آبی می گردند . برای مثال ، وقتی کسر قابل توجهی از ملکولهای موجود در سطح یک محلول آبی ، ملکول آب نبوده و ملکول ماده حل شده باشد ، تمایل ملکول های آب برای فرار به فاز گازی (فشار بخار) کاهش می یابد (شکل ۹-۴) . به طور مشابه ، تمایل ملکول های آب برای حرکت از فاز آبی به سطح یک کریستال تشکیل دهنده یخ در زمانیکه بعضی از ملکول هایی که با کریستال تصادم می نمایند ، از ماده حل شده بوده و آب نباشد ، کاهش می یابد . در این حالت ، محلول آهسته تر از آب خالص و در یک درجه حرارت پایین ترین یخ خواهد زد . برای یک محلول ۱/۰۰ مولال آبی (۱/۰۰ مول ماده حل شده در هر g ۰۰۰و۱ آب) یک ماده حل شده غیر فرار و تفکیک نشده در فشار kpa ۱۰۱(atm ۱) نسبت به آب خالص ، نقطه انجماد آن °C ۱/۸۶ کمتر و نقطه جوش آن °C ۰/۵۴۳ بیشتر می باشد . برای محلول های ۰/۱۰۰ مولال همین ماده حل شده ، بزرگی این تغییرات یک دهم خواهد بود .

ملکول های آب تمایل دارند که از یک ناحیه با غلظت بیشتر آب به یک ناحیه با غلظت کمتر حرکت نمایند . وقتی دو محلول آبی متفاوت توسط یک غشاء نیمه تراوا (غشایی که اجازه عبور آب را داده ولی مانع عبور ماده حل شده می شود) از یکدیگر جدا گردند ، انتشار ملکول های آب از ناحیه با غلظت بیشتر آن به ناحیه با غلظت کمتر آب ، تولید فشار اسموتیک می نماید (شکل ۱۰-۴) . این فشار II که بر اساس نیروی لازم برای مقاومت در برابر حرکت آب ، اندازه گیری می شود ، توسط معادله و انتهوف برآورد می گردد :

$$\Pi = icRT$$

که در آن R ثابت گازی و T دمای مطلق می باشد . اصطلاح ic اسمولاریتی محلول می باشد که حاصل ضرب غلظت مولی ماده حل شده (c) در فاکتور و انتهوف (i) است ؛ فاکتور و انتهوف معیاری از میزان تفکیک ماده حل شده به دو یا چند جزئی یونی است . در محلول های رقیق NaCl این ماده حل شده به طور کامل به +Na و -Cl تفکیک شده و تعداد ذرات ماده حل شده را دو برابر می نماید ؛ در این حالت i برابر ۲ خواهد بود . برای مواد حل شده غیر قابل تفکیک ، I همیشه برابر یک می باشد . برای محلول های حاوی مواد حل شده متعدد (n) ، II مجموع همکاریهای مربوط به هر کدام می باشد :

$$II = RT(i_1c_1 + i_2c_2 + ...i_nc_n)$$

اسمز ، حرکت آب از عرض یک غشاء نیمه تراوا به واسطه تفاوت در فشارهای اسموتیک ، عامل مهمی در حیات اکثر سلول ها می باشد . غشاء های پلاسمایی نسبت به آب در مقایسه با سایر مولکول های کوچک ، یون ها و کاروملکول ها ، نفوذ پذیر می باشد . این نفوذ پذیری تا حدودی به خاطر انتشار ساده آب از لابلای دو لایه لیپیدی و قسمتی به واسطه کانال های پروتئینی (اکواپورین ها) موجود در غشا می باشد که به طور انتخابی اجازه عبور آب را می دهند . محلول های دارای اسمولاریتی برابر را ایزوتونیک گویند . سلولی که در یک محیط ایزوتونیک قرار گرفته است ، نه آب می گیرد ونه آب از دست می دهد (شکل ۱۱-۴) .

در محلول هیپوتونیک (دارای اسمولاریتی کمتر) سلول متورم شده و در صورتی که توسط دایره سلولی محافظت نگردد ، نهایتاً پاره می شود . سلول ها در مقایسه با محیط های اطراف آنها ، عموما دارای غلظت بیشتر بیوملکول ها و

یون ها می باشند ، از اینرو فشار اسموتیک تمایل دارد که آب را به داخل سلول ها بکشاند . در صورتیکه به طریقی با این حرکت رو به داخل آن مقابله نگردد ، غشاء پلاسمایی بزرگ شده و نهایتاً منجر به انفجار سلولی (لیز اسموتیک) می شود .

برای جلوگیری از این اتفاق سه مکانیسم وجود دارد . در باکتریها و گیاهان ، در اطرف غشاء پلاسمایی یک دیواره سلولی غیر قابل توسعه قرار گرفته است که به اندازه کافی برای مقاومت در برابر فشار اسموتیک و جلوگیری از این اسموتیک ، سخت و قوی می باشد . بعضی از تک سلولی های آب تازه که در داخل محیط شدیداً هیپوتونیک زندگی می کنند ، دارای اندامکی (واکوئی انقباض) می باشند که آب را به خارج سلول پمپ می نماید . در موجودات پرسلولی ، پلاسمای خون و مایع بینا بینی (مایع خارج سلولی بافت ها) در اسمولاریتی در حدود اسمولاریتی سیتوزول حفظ می گردند . غلظت بالای آلبومین و سایر پروتئین در پلاسمای خون در ایجاد اسمولاریتی آن نقش دارند . سلول ها نیز به طور فعال یون هایی نظیر Na^+ را به خارج سلول و به داخل مایع بینا بینی پمپ می نمایند تا تعادل اسموتیک آنها با محیط اطراف حفظ گردد .

چون اثر مواد حل شده بر روی اسمولاریتی بستگی به تعداد ذرات حل شده و نه جرم آنها دارد ، ماکروملکول ها (پروتئین ها ، اسید های نوکلئیک و پلی ساکارید ها) در مقایسه با جرم برابری از اجزاء منومری خود ، دارای اثر بسیار کمتری بر روی اسمولاریتی یک محلول می باشند . برای مثال ، یک گرم پلی ساکارید متشکل از ۱۰۰۰ واحد گلوکز ، بر روی اسمولاریتی دارای اثر مشابه یک میلی گرم کلوکز است . یکی از دلایل ذخیره مواد سوختی به شکل پلی ساکارید ها (نشاسته و گلیکوژن) و نه به صورت کلوگز یا سایر قندهای ساده ، جلوگیری از افزایش زیاد در فشار اسموتیک داخل سلول ذخیره ای است .

گیاهان از فشار اسموتیک برای رسیدن به سفتی مکانیکی استفاده می نمایند . غلظت بسیار بالای ماده حل شده در داخل واکوئل ، آب را به داخل سلول می کشاند (شکل ۱۰-۲ را ببینید) فشار اسموتیک حاصل در برابر دیواره سلولی (فشار تورگور) سبب سفتی سلول ، بافت و جسم گیاه می گردد . وقتی کاهو موجود در سالاد پژمرده می شود ، علت آن از دست رفتن آبی می باشد که سبب کاهش فشار تورگور شده است . تغییرات برجسته فشار تورگور ، سبب حرکت بخشهایی از گیاه می شود که در گیاهان حساس به تماس ، نظیر گل حشره خوار زهره و گل ابریشم ، مشاهده می گردد (کادر ۱-۴) .

اسمز اثراتی در روشهای آزمایشگاهی دارد . برای مثال ، میتوکندریها ، کلروپلاستها ، و لیزوزومها توسط غشاء های نیمه تراوا احاطه شده اند . برای جدا سازی این اندامکها از سلول لیز شده (شکل ۲۰-۲ را ببینید) لازم است جداسازی در محلول های ایزونوتیک به انجام برسد . بافرهایی که اغلب برای جداسازیهای سلولی به کار می روند ، معمولا حاوی غلظتهای کافی (حدود ۰/۲M) سوکروز یا ماده حل شده خنثی دیگر ، برای حفاظت این اندامکها در برابر لیز اسموتیک ، می باشند .

یونیزاسیون آب ، اسید های ضعیف و بازهای ضعیف

هر چند بسیاری از ویژگی های حلال آب را می توان با ملکول بدون بار H_2O شرح داد ، شدت کم یونیزاسیون آب به یون های هیدروژن (H^+) و یون های هیدروکسیل (OH^-) نیز باید در نظر گرفته شود . همانند تمامی واکنش های

برگشت پذیر ، یونیزاسیون آب را می توان به وسیله ثابت تعادل بیان نمود . وقتی اسید های ضعیف در آب حل می گردند ، با یونیزاسیون در تولید H^+ همکاری می نمایند ؛ بازها با پروتونه شدن ، H^+ را مصرف می کنند . این فرایند ها نیز بر اساس ثابت های تعادلی به انجام می رسند . غلظت کل هیدروژن از منابع مختلف را می توان به طور تجربی اندازه گیری نمود و به صورت PH محلول بیان کرد . برای پیش بینی وضعیت یونیزاسیون مواد حل شده در آب ، خلاصه ای پیرامون یونیزاسیون آب و اسید ها و بازهای ضعیف حل شده در آب می پردازیم .

آب خالص قدری یونیزه می گردد

ملکول های آب تمایل جزئی برای یونیزاسیون قابل برگشت به یک یون هیدروژن (پروتون) و یک یون هیدروکسید در تعادل زیر دارند :

$$H_2O \rightarrow H^+ + OH^- \qquad (۴-۱)$$

هر چند ، معمولا محصول تفکیک آب به صورت H^+ نشان داده می شود ، پروتونها به شکل آزاد در محلول وجود ندارند ؛ زیرا یون های هیدروژن تولیدی در آب سریعاً به یون های هیدرونیوم (H_3O^+) هیدارته می گردند . ایجاد پیوند هیدروژنی بین ملکول های آب ، هیدراتاسیون پروتونهای حاصل از تفکیک را آنی نموده است :

$$H__O \Vert\Vert H-O \qquad \rightarrow H-O+__H+OH-$$
$$H \quad H \qquad\qquad H$$

یونیزاسیون آب را می توان توسط هدایت الکتریکی آن اندازه گیر ینمود ؛ آب خالص ، با حرکت +H به سمت کاتد و -OH به سمت آند ، جریان الکتریکی را هدایت می نماید . حرکت یون های هیدرونیوم و هیدروکسید در میدان الکتریکی ، در مقایسه با یونهای Cl^- , K^+ , Na^+ به طور غیر عادی سریعتر می باشد . این تحرک یونی بالا از « پرش پروتونی » حاصل شده که در شکل ۱۲-۴ مشاهده می گردد . هیچ پروتونی فاصله زیادی را در حجم بزرگ محلول طی نمی نمایند ، بلکه یک سری پروتون بین ملکول های آبی که توسط پیوندهای هیدروژنی به یکدیگر متصل شده اند ، پرش نموده و منجر به حرکت خالص یک پروتون در طول یک مسافت و در یک زمان به طور قابل توجه کوتاه می گردد . در نتیجه حرکت یونی بالای H^+ (و همچنین OH^- که سریعاً به وسیله پرش پروتونی ، ولی در جهت مخالف ، حرکت می نماید) واکنش های اسید – باز در محلول های آبی عموماً و استثنائاً سریع هستند .به احتمال زیاد ، پرش پروتونی در واکنش های بیولوژیکی انتقال پروتون نیز نقش دارد .

از آنجایی که یونیزاسیون قابل برگشت برای ایفاء نقش آب در عملکرد سلولی مهم می باشد ، می بایست راهی برای بیان کمی میزان یونیزاسیون آب داشته باشیم . مروری خلاصه بر بعضی خصوصیات واکنش های شیمیایی قابل برگشت ، نشان خواهد داد که این امر عملی است .

موقعیت تعادلی هر واکنش شیمیایی توسط ثابت تعادل K_{eq} (گاهی به طور ساده به صورت K بیان می گردد) مشخص می شود . برای واکنش کلی

$$A + B \rightarrow C + D \qquad (۴-۲)$$

ثابت تعادل را می توان بر حسب غلظتهای مواد واکنشگر (A , B) و محصولات (C , D) در حالت تعادل ، تعیین نمود :

$$K_{eq} = \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

برای بیان دقیق این مطلب ، اصطلاح غلظت را باید به عنوان فعالیت یا غلظت موثر هر ماده در محلول های غیر ایده آل در نظر بگیریم . به استثناء کارهای بسیار صحیح ، ثابت تعادل را می توان با اندازه گیری غلظت در حالت تعادل برآورد نمود . بنا به دلایلی که خارج از محدوده این کتاب می باشد ، ثابت های تعادل فاقد واحد هستند . هر چند ، عموماً از واحدهای غلظت (M) در بیان تعادلی این کتاب استفاده شده تا یادآور آن باشد که مولاریته واحد غلظت مورد استفاده در K_{eq} است .

ثابت تعادل بدون تغییر بوده و برای هر واکنش شیمیایی خاص در دمای معین ، میزان مشخصی است . این ثابت ترکیب مخلوط تعادلی نهایی را بدون توجه به میزان مواد واکنشگر و محصولات موجود در ابتدای واکنش ، تعریف می نماید . برعکس ، در صورت مشخص بودن غلظت تمامی واکنشگرها و محصولات ، می توان ثابت تعادل را برای یک واکنش خاص و در یک دمای مشخص تعیین نمود .

یونیزاسیون آب توسط یک ثابت تعادل بیان می گردد

شدت یونیزاسیون آب در حالت تعادله (معادله ۱-۴) کوچک می باشد ؛ در ۲۵ °C ، تنها حدود یک ملکول به ازاء هر $۱۰^{۷}$ ملکول آب خالص در هر لحظه یونیزه می باشد . ثابت تعادل برای یونیزاسیون قابل برگشت آب (معادله ۱-۴) به صورت زیر می باشد :

$$K_{eq} = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]} \qquad (۴-۳)$$

در آب خالص در ۲۵ °C غلظت آب برابر ۵۵/۵ M (گرم های H_2O در ۱ L تقسیم بر وزن ملکولی آب : (g/mol ۱۸/۰۱۵) بوده و در ارتباط با غلظتهای بسیار پایین H^+ , OH^- یعنی $۱۰^{-۷}$ M * ۱ اساساً ثابت می باشد . بدین ترتیب می توان ۵۵/۵ M را در معادله ثابت تعادل (۳-۴) قرار داد :

$$K_{eq} = \frac{[H^+][OH^-]}{55.5M}$$

که برابر خواهد بود با :

$$(55.5M)(K_{eq}) = [H^+][OH^-] = K_w \qquad (۴-۴)$$

که در آن K_w برابر حاصل ضرب (K_{eq}) (۵۵/۵ M) بوده و حاصل ضرب یونی آب در ۲۵ °C گفته می شود .

میزان K_{eq} تعیین شده با اندازه گیری هدایت الکتریکی آب خالص ، برابر $۱/۸*۱۰^{-۱۶}$ در ۲۵ °C می باشد .

جایگزینی این مقدار در K_{eq} در معادله ۴-۴ حاصل ضرب یونی آب برابر خواهد بود با :

$$K_w = [H^+][OH^-] = (55.5M)(1.8*10^{-16}M) = 1.0\times10^{-14}M^2$$

بنابراین حاصل ضرب $[H^+][OH^-]$ در محلول های آبی همیشه برابر $۱*۱۰^{-۱۴}$ $M^۲$ در ۲۵ °C می باشد وقتی غلظت های H^+ , OH^- در یک محلول ، مثل آب خالص ، دقیقا برابر هستند ، گفته می شود که آن محلول درPH خنثی می باشد . در این PH غلظت H^+ , OH^- را می توان از حاصل ضرب یونی آب به صورت زیر محاسبه نمود .

$$K_w = [H^+][OH^-] = [H+]^2$$

با حل معادله برای $[H^+]$ خواهیم داشت :

$$[H^+] = \sqrt{K_w} = \sqrt{1\times10^{-14}M^2}$$
$$[H^+] = [OH^-] - 10^{-7}M$$

از آنجایی که محصول یونی آب ثابت است ، هر زمان که $[H^+]$ بیش از $M^{-۷}$۱۰*۱ باشد ، می بایست $[OH^-]$ کمتر از $M^{-۷}$۱۰*۱ باشد و بر عکس . وقتی $[H^+]$ بسیار بالا است ، همانند فلظت موجود در محلول اسید کلریدریک ، لازم است $[OH^-]$ بسیار پایین باشد . وقتی $[OH^-]$ مشخص است ، می توان با استفاده از حاصلضرب یونی آب ، میزان $[H^+]$ را محاسبه نمود و بر عکس .

مقیاس PH غلظتهای H^+, OH^- را نشان می دهد

حاصل ضرب یونی آبی ، K_w اساس مقیاس PH می باشد (جدول ۵-۴) . این مقیاس وسیله مناسبی برای تعیین غلظت $[H^+]$ (و بنابراین OH^-) در هر محلول آبی در دامنه بین یون هیدروژن ۱/۰ M و یون هیدروکسید ۱/۰ M می باشد . اصطلاح PH به صورت زیر تعریف می گردد :

$$pri = \log\frac{1}{[H^+]} = -\log[H^+]$$

سمبل P به معنی « منفی لگاریتم » می باشد . در مورد یک محلول دقیقاً خنثی در ۲۵ °C که غلظت یون های هیدروژن آن برابر $M^{-۷}$۱۰*۱ می باشد ، PH را می توان به صورت زیرمحاسبه نمود :

$$PH = \log\frac{1}{1.0\times10^{-7}} = \log(1.0\times10^7) = \log1.0 + \log10^7 = 0 + 7 = 7$$

میزان ۷ برای PH یک محلول دقیقا خنثی ، عددی نیست که به طور دلخواه انتخاب شده باشد ؛ این عدد از مقدار مطلق حاصل ضرب یونی آب در ۲۵°C بدست آمده است که بر حسب تصادف یک عدد گرد می باشد . محلول های دارای PH بالای ۷ ، قلیایی یا بازی می باشند ؛ در این محلول ها غلظت OH^- بیش از غلظت H^+ است . بر عکس ، محلول های دارای PH کمتر از ۷ ، اسیدی هستند.

توجه داشته باشید که مقیاس PH لگاریتمی است . وقتی گفته می شود که دو محلول از نظر PH به اندازه یک واحد PH با یکدیگر اختلاف دارند ، این به معنی آن است که غلظت H^+ موجود در یکی از این محلول ها ده برابر بیش از محلول دیگر می باشد ولی به ما نمی گوید که بزرگی مطلق این تفاوت چقدر است . در شکل ۱۳-۴ ، PH چند محلول آبی معمول آورده شده است . نوشیدنی کولا (PH برابر ۳/۰) دارای غلظت H^+ حدود ۰۰۰و۱۰ برابر خون (PH برابر ۷/۴) می باشد .

PH یک محلول آبی را می توان با استفاده از رنگهای معرف مختلف ، از جمله لیتموس ، فنل فتالئین و فنل رد ، تعیین نمود که با جدا شدن یک پروتون از ملکول معرف ، تغییر رنگ می دهند . تعیین مقدار صحیح PH در آزمایشگاه های شیمی و بالینی با استفاده از یک الکترود شیشه ای به انجام می رسد که به طور انتخابی به غلظت یون های H^+ حساس بوده ولی حساسیتی به Na^+ , K^+ و سایر کاتیون ها ندارد . در یک PH متر ، پیام حاصل از این نوع الکترودها تقویت شده و با پیام حاصل از یک محلول دارای PH کاملا شناخته شده مقایسه می گردد .

اندازه گیری PH یکی از مهمترین آزمایشهای مورد استفاده در بیوشیمی می باشد که اغلب مورد استفاده قرار می گیرد . PH بر روی ساختمان و فعالیت ماکروملکول های بیولوژیک اثر دارد ؛ برای مثال ، فعالیت کاتالیتیکی آنزیم ها

شدیداً وابسته به PH می باشد (شکل ۱۹-۴ را ببینید) . اندازه گیری PH خون و ادرار معمولا در تشخیص های پزشکی مورد استفاده قرار می گیرد . برای مثال ، PH پلاسمای خون مبتلایان به دیابت شدید اغلب کمتر از حد طبیعی ۷/۴ است ؛ این حالت را اسیدوز گویند . در بعضی موارد دیگر بیماریها ، PH خون بیش از حد طبیعی بوده که به آن آلکالوز گویند .

اسید ها و بازهای ضعیف ثابتهای تفکیک مشخصی دارند

اسیدهای هیدروکلریک ، سولفوریک و نیتریک که معمولا اسیدهای قوی نامیده می شوند ، در محلول های آبی رقیق به طور کامل یونیزه می گردند ؛ بازهای قوی ، نظیر NaOH , KOH نیز کاملا یونیزه می شوند . رفتار اسیدها و بازهای ضعیف که به طور کامل در آب یونیزه نمی گردند ، برای بیوشیمیدانها اهمیت بیشتری دارد . این ترکیبات در سیستم های بیولوژیک متداول بوده و نقش های مهمی را در متابولیسم و تنظیم ایفاء می نمایند . با شرح چند اصطلاح ، رفتار محلول های آبی اسید ها و بازهای ضعیف را بهتر می توان درک نمود .

اسید ها را می توان به عنوان دهنده های پروتونی و بازها را به عنوان گیرنده های پروتونی تعریف نمود . یک دهنده پروتون و گیرنده پروتونی مربوط به آن ، مجموعا جفت اسید – بازکونژوگه نامیده می شوند (شکل ۱۴-۴) . اسید استیک (CH_3COOH) یک دهنده پروتون ، و آنیون استات (CH_3COO^-) گیرنده پروتونی مربوطه ، یک جفت اسید – باز کونژوگه را تشکیل می دهند که به واسطه واکنش دو طرفه زیر با یکدیگر ارتباط پیدا می کنند :

$$CH_3COOH \rightarrow H^+ + CH_3OO-$$

هر اسیدی دارای تمایل مشخصی برای از دست دادن یک پروتون در محلول آبی است . هر چه اسید قویتر باشد ، تمایل بیشتری برای از دست دادن پروتون خواهد داشت . تمایل یک اسید (HA) برای دادن یک پروتون و ایجاد باز کونژوگه مربوطه (A^-) در واکنش قابل برگشت

$$HA \rightarrow H^+ + A^-$$

با ثابت تعادل (K_{eq}) تعریف می کنند که برابر است با :

$$K_{eq} = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

ثابت های تعادلی مربوط به واکنش های یونیزاسیون را ثابت های تفکیک یا یونیزاسیون گویند و اغلب با K_a نمایش می دهند . ثابت های تفکیک بعضی از اسید های آمینه در شکل ۱۴-۴ آورده شده است . اسید های قویتر ، نظیر اسید های فسفر یک و کربنیک ، دارای ثابت های تفکیک بیشتری بوده و اسید های ضعیف تر ، نظیر منوهیدروژن فسفات (HPO_4^{2-}) دارای ثابت های تفکیک کوچکتری هستند .

در شکل ۱۴-۴ مقادیر PK_a نشان داده شده است که مشابه PH بوده و به صورت زیر تعریف می گردد :

$$PK_a = \log\frac{1}{K_a} = -\log K_a$$

هر چه تمایل به تفکیک یک پروتون بیشتر باشد ، اسید قویتر بوده و PK_a آن پایین تر خواهد بود . همانطوری که حالا خواهیم دید PK_a هر اسید ضعیفی را می توان به راحتی تعیین نمود .

منحنی های تیتراسیون PK_a اسیدهای ضعیف را مشخص می نماید

برای تعیین میزان یک اسید وجود در یک محلول خاص از تیتراسیون استفاده می گردد . حجم مشخصی از یک اسید توسط یک باز قوی ، معمولا هیدروکسید سدیم (NaOH) دارای غلظت مشخص ، تیتر می گردد . NaOH به صورت قطره قطره افزوده شده و در حضور یک معرف رنگی یا PH متر تیتراسیون آنقدر ادامه می یابد تا تمامی اسید موجود مصرف (خنثی) گردد . غلظت اسید موجود در محلول ابتدایی را می توان از حجم و غلظت NaOH اضافه شده بدست آورد .

نمودار PH در برابر مقدار NaOH اضافه شده (یک منحنی تیتراسیون) میزان PK_a اسید ضعیف را مشخص می نماید . تیتراسیون یک محلول M ۰/۱ در نظر بگیرید . در این فرایند دو واکنش تعادلی قابل برگشت شرکت دارند :

$$H_2O \rightarrow H^+ + OH^- \qquad (۴-۵)$$

$$HAc \rightarrow H^+ + Ac^- \qquad (۴-۶)$$

این تعادلها می بایست به طور همزمان به ثابت های تعادلی مشخص خود برسند که به ترتیب برابرند با :

$$K_w = [H^+][OH^-] = 1\times10^{-14}\,M^2 \qquad (۴-۷)$$

$$K_a = \frac{[H^+][Ac^-]}{[HAc]} = 1.74\times10^{-5}\,M \qquad (۴-۸)$$

در شروع تیتراسیون ، قبل از افزودن NaOH ، اسید استیک به میزان مختصر یونیزه می باشد که میزان آن را می توان از ثابت تفکیک مربوطه (معادله ۸-۴) محاسبه نمود .

با افزودن تدریجی NaOH , OH^- اضافه شده با H^+ آزاد ترکیب و تولید H_2O می نماید ، میزان این ترکیب در حدی است که ارتباط تعادلی در معادله ۷-۴ را تضمین نماید . با برداشت H^+ میزان بیشتری از HAc یونیزه شده تا به ثابت تعادل خود برسد (معادله ۸-۴) .

با افزون مقادیر بیشتر NaOH در طی پیشرفت تیتراسیون ، نتیجه خالص یونیزاسیون بیشتر و بیشتر HAc و تولید Ac^- می باشد . در نقطه میانی تیتراسیون ، در حالتی که ۰/۵ اکی والان NaOH افزوده شده است ، نیمی از اسید استیک ابتدایی یونیزه شده و بنابراین حالا $[HAc]$ برابر گیرنده غلظت پروتونی ، $[Ac^-]$ می باشد . در این نقطه میانی ، یک ارتباط بسیار مهم وجود دارد : PH محلول اکی مولار اسید استیک و استات دقیقا برابر PK_a اسید استیک است (۴/۷۶ = PK_a ؛ اشکال ۱۴-۴ و ۱۵-۴ را نیز ببینید) . اساس این ارتباط ، که در مورد تمامی اسید های ضعیف صادق می باشد ، بزودی روشن خواهد گردید .

با پیشرفت تیتراسیون طی افزودن مقادیر بیشتر NaOH اسید استیکی که هنوز یونیزه نشده ، به تدریج به استات تبدیل می شود . نقطه پایان تیتراسیون در ۷/۰ PH می باشد : تمامی اسید استیک پروتونهای خود را به OH^- داده و ایجاد H2O و استات می گردد . در سرتاسر تیتراسیون دو تعادل (معادلات ۵-۴ و ۵-۴) با یکدیگر وجود داشته و هر کدام همیشه مطابق با ثابت های تعادلی خود می باشند .

در شکل ۱۶-۴ منحنی های تیتراسیون سه اسید ضعیف با ثابت های تفکیک بسیار متفاوت با یکدیگر مقایسه شده اند : اسید استیک (۴/۷۶ = PK_a) دی هیدروژن فسفات ، H_2PO_4 (۶/۸۶ = PK_a) و یون آمونیوم ، $NH4^+$ (۹/۲۵ = PK_a) . هر چند منحنی تیتراسیون این سه اسید دارای شکل مشابهی هستند ، به علت داشتن قدرت های اسیدی مختلف ، در طول محور PH واقع شده اند . اسید استیک قویترین اسید بوده (آسانتر پروتون خود را از دست می دهد) زیرا

بیشترین Ka (کمترین PK_a) را در میان این سه اسید دارد . نیمی از اسید استیک در PH ۴/۷۶ یونیزه می باشد . دی هیدروژن فسفات ، پروتون خود را سخت تر از دست داده و نیمی از آن در PH ۶/۸۶ یونیزه می باشد . یون آمونیوم ضعیف ترین اسید را در میان این سه بوده و تا به PH ۹/۲۵ نرسد ، نیمی از آن یونیزه نمی گردد .

مهمترین نقطه در منحنی تیتراسیون یک اسید ضعیف که در شکل نشان داده شده است ، نقطه ای است که در آن اسید ضعیف و آنیون آن (یک جفت اسید – بازکونژوگه) به عنوان بافر عمل می نمایند .

بافری نمودن تغییرات PH در سیستم های بیولوژیک

تقریباً هر فرایند بیولوژیک وابسته به PH می باشد و هر تغییر کوچکی در PH منجر به تغییر بزرگی در سرعت آن فرایند می گردد . این موضوع نه تنها برای بسیاری از واکنش هایی که یون H^+ نقش آشکاری در آنها ندارند ، صادق می باشد . آنزیم هایی که واکنش های سلولی را کاتالیز می نمایندو بسیاری از ملکول هایی که آنزیم ها بر روی آنها عمل می کنند ، دارای گروه های قابل یونیزاسیون با PK_a مشخص می باشند .

برای مثال ، گروه های پروتونه آمینوو کربوکسیل اسید های آمینه و گروههای فسفات نوکلئوتیدها ، به عنوان اسیدهای ضعیف عمل می نمایند ؛ شکل یونی این ملکول ها بستگی به PH محیط اطراف آنها دارد . همانطورکه قبلا ذکر گردید ، واکنش های متقابل یونی از جمله نیروهایی می باشند که یک پروتئین را فعال نموده و این امکان را فراهم می سازد که آنزیم سوبسترا خود را شناسایی نموده و به آن اتصال یابد .

سلول ها و موجودات یک PH ستوزولی ثابت و اختصاصی را حفظ نموده و در نزدیکی ۷ PH بیوملکلول های خود را در حالت یونی مطلوب نگه می دارند . در موجودات پر سلولی ، PH مایعات خارج سلولی نیز شدیداً تحت تنظیم بوده وثبات PH اساساً توسط بافرهای بیولوژیک حاصل می گردد که خود مخلوطی از اسید های ضعیف و بازهای کونژوگه آنها می باشند .

در اینجا به شرح تعادلات یونیزاسیون پرداخته می شود که ارتباط کمی را بین PH یک محلول بافری و PK_a بافر نشان می دهند .بافری نمودن بیولوژیک با استفاده از سیستم های بافری فسفات و کربنات برای انسان شرح داده می شوند.

بافرها مخلوطی از اسیدهای ضعیف و بازهای کونژوگه آنها می باشند

بافرها سیستم های آبی هستند که تمایل دارند در برابر تغییرات PH در هنگام اضافه شدن مقادیر کم اسید (H^+) یا باز (OH^-) مقاومت نمایند . یک سیستم بافری از یک اسید شعیف (دهنده پروتون) و بازکونژوگه آن (گیرنده پروتون) تشکیل می شود . برای مثال ، مخلوطی از غلظتهای برابر اسید استیک و یون استات که در نقطه میانی منحنی تیتراسیون شکل ۱۵-۴ دیده می شود ، یک سیستم بافری است . منحنی تیتراسیون اسید استیک دارای ناحیه نسبتاً پهنی می باشد که حدود یک واحد PH در دو طرف PH ۴/۷۶ نقطه میانی آن امتداد دارد .

در این ناحیه ، میزان H^+ یا OH^- اضافه شده به سیستم دارای اثر کمتری بر روی PH در مقایسه با همین میزان اضافه شده در خارج این دامنه بافری است . در این ناحیه پهن ، ناحیه بافری جفت بافری اسید استیک – استات می باشد . در نقطه میانی این ناحیه بافری ، که غلظت پروتونی (اسید استیک) دقیقاً برابر گیرنده پروتونی (استات) است ، قدرت بافری سیستم حداکثر می باشد ؛ یعنی ، با افزودن H^+ یا OH^- حداقل تغییرات PH مشاهده می گردد . PH در این نقطه منحنی تیتراسیون اسید استیک برابر PK_a آن می باشد . وقتی مقدار کمی H^+ یا OH^- افزوده می شود ، PH

سیستم بافری استات به میزان مختصری تغییر می یابد ، ولی این تغییر در مقایسه با افزودن همین میزان H^+ (یا OH^-) به آب خالص یا محلولی از نمک یک اسید قوی و یک باز قوی ، نظیر NaCl که فاقد هر گونه قدرت بافری است ، بسیار کوچک می باشد .

بافری شدن حاصل دو واکنش قابل برگشت تعادلی است که در محلولی با غلظتهای تقریباً برابر یک دهنده پروتونی و گیرنده پروتونی کونژوگه آن رخ می دهد . شکل ۱۷-۴ نحوه عمل یک سیستم بافری را شرح می دهد . هر وقت H^+ یا OH^- به یک بافر افزوده می شود ، نتیجه یک تغییر کوچک در نسبت غلظتهای نسبی اسید ضعیف و آنیون آن و بنابراین تغییر کوچک در PH می باشد . کاهش غلظت یک جزء این سیستم ، دقیقاً با افزایش در دیگری متعادل می گردد . جمع اجزاء بافری تغییر نکرده و تنها نسبت آنها دستخوش تغییر می گردد .

هر جفت اسید – باز کونژوگه دارای یک ناحیه PH مشخص می باشد که در آن به عنوان یک بافر موثر عمل می نماید (شکل ۱۶-۴) .جفت $H_2PO_4^- / HPO_4^{2-}$ دارای یک PKa ۶/۸۶ بوده و بنابراین به عنوان یک سیستم بافری موثر بین PH حدود ۵/۹ تا ۷/۹ عمل نماید ؛ جفت NH_4^+ / NH_3 با PK_a برابر ۹/۲۵ می تواند به عنوان یک بافر در دامنه PH ۸/۳ و PH ۱۰/۳ عمل کند .

با یک بیان ساده PH , PK و غلظت بافر با یکدیگر مرتبط می شوند

منحنی های تیتراسیون اسید استیک $NH_4^+, H2PO_4^-$ (شکل ۱۶-۴) دارای اشکال تقریباً مشابهی هستند که ارتباط یا اصول پایه ای را در آنها مطرح می نماید . در حقیقت همینطور می باشد . شکل هر منحنی تیتراسیون یک اسید ضعیف را می توان با معادله هندرسن – هاسلباغ شرح داد که برای درک عمل بافری و تعادل اسید – باز در خون و بافت های مهره داران مهم می باشد . به طور ساده ، این معادله یک راه مفید برای شروع مجدد بیان ثابت تفکیک یک اسید است .

برای تفکیک یک اسید ضعیف $H\Delta$ و A^- معادله هندرسن – هاسلباخ را می توان به صورت زیر بدست آورد :

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

ابتدا معادله را برای $[H^+]$ حل می کنیم :

$$[H^+] = K_a \frac{[HA]}{A^-}$$

سپس لگاریتمی منفی هر دو طرف گرفته می شود :

$$-\log[H^+] = -\log K_a - \log\frac{[HA]}{[A^-]}$$

با جایگزینی PH بجای $-\log[H+]$ و PK_a بجای $-\log K_a$ خواهیم داشت :

$$PH = PK_a - \log\frac{[A^-]}{[HA]}$$

برای بیان عمومی تر از معادله زیر استفاده می گردد :

$$PH = PK_a + \log\frac{[\text{گیرنده پروتون}]}{\text{دهنده پروتون}}$$

این معادله منطبق بر منحنی تیتراسیون تمامی اسید های ضعیف بوده و ما را قادر می سازد تا چند ارتباط کمی مهم را از آن استخراج کنیم . برای مثال ، این معادله نشان می دهد که چرا PK_a یک اسید ضعیف برابر PH محلول در نقطه میانی تیتراسیون آن می باشد . در آن نقطه $[HA]$ برابر $[A^-]$ بوده و

$$PH = PK_a + \log 1.0 = PK_a + 0 = PK_a$$

همانطور که در کادر ۳-۴ نشان داده شده است ، همچنین معادله هندرسن – هاسلباخ محاسبه چندین پارامتر را ممکن ساخته است :

(۱) PK_a از روی مقادیر مشخص PH و نسبت مولی دهنده و گیرنده پروتون ؛

(۲) PH از روی مقادیر مشخص PK_a و نسبت مولی دهنده و گیرنده پروتون ؛

(۳) نسبت مولی دهنده و گیرنده پروتون در مقادیر مشخص PH و PK_a.

اسید ها و بازهای ضعیف ، تغییرات PH سلول ها و بافت ها را بافری می نمایند

مایعات داخلی سلولی و خارج سلولی موجودات پر سلولی دارای PH مشخص و تقریباً ثابتی هستند . اولین خط دفاعی موجودات در برابر تغییرات PH داخلی توسط سیستم های بافری تامین می گردد . سیتوپلاسم بیشتر سلول ها دارای غلظتهای بالایی از پروتئین ها می باشند که خود دارای اسید های آمینه متعدد با گروه های عامل قابل یونیزاسیون به عنوان اسید ها یا بازهای ضعیف هستند .

برای مثال ، زنجیر جانبی هیستیدین (شکل ۱۸-۴) دارای PK_a برابر ۶/۰ می باشد ؛ از اینرو ، پروتئین های حاوی ریشه های هیستیدین دارای قدرت بافری موثر در PH نزدیک خنثی می باشند . نوکلئوتیدهایی نظیر ATP همراه با بسیاری از متابولیتهای دارای وزن ملکولی پایین ، دارای گروه های قابل یونیزه بوده که می تواند به قدرت بافری سیتوپلاسم کمک نمایند . بعضی از اندامکهای و بخشهای خارج سلولی شدیداً تخصصی ، دارای غلظتهای بالای ترکیباتی هستند که در ظرفیت بافری نقش دارند که از جمله آنها می توان به بافر اسید های آلی واکوئل های سلول های گیاهی و بافرهای آمونیاکی ادرار اشاره نمود.

دو بافر بیولوژیک مهم شامل سیستم های فسفات و بیکربنات می باشند . سیستم بافری فسفات که در داخل سیتوپلاسم تمامی سلول ها وجود دارد ، از $H_2PO_4^-$ به عنوان دهنده پروتون و HPO_4^{2-} به عنوان گیرنده پروتون تشکیل یافته است :

$$H_2PO\bar{4} \rightarrow H^+ + HPO_4^{2-}$$

این سیستم بافری دارای بیشترین اثر در PH نزدیک به PK_a ۶/۸۶ خود بوده (اشکال ۱۴-۴ و ۱۶-۴) و بنابراین در برابر تغییرات PH در دامنه ۵/۹ تا ۷/۹ مقاومت می نماید . از اینرو سیستم بافری فسفات یک بافر موثر در مایعات بیولوژیک می باشد ؛ برای مثال ؛ در پستانداران PH مایعات خارجی سلولی و بیشتر بخشهای سیتوپلاسمی در دامنه ۶/۹ تا ۷/۴ قرار دارد .

پلاسمای خون تا حدودی توسط سیستم بیکربنات بافری می گردد که از اسید کربنیک (H_2CO_4) به عنوان دهنده پروتون و بیکربنات (HCO_3^-) به عنوان گیرنده پروتون تشکیل یافته است :

$$H_2CO4_3 \rightarrow H^+ + HCO_3^-$$
$$K_1 = \frac{[H+][HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}$$

این سیستم بافری پیچیده تر از جفتهای اسید – بازکونژوگه می باشد ، زیرا یکی از اجزاء آن ، اسید کربنیک (H_2CO_4) از دی اکسید کربن حل شده (d) و آب در واکنش دو طرفه زیر تولید می گردد :

$$CO_2(d) + H_2O \rightarrow H_2CO_3$$
$$K_2 = \frac{[H_2CO_3]}{[CO_2(d)][H_2O]}$$

دی اکسید کربن تحت شرایط طبیعی ، یک گاز بوده و غلظت CO_2 حل شده حاصل از تعادل CO_2با فاز گازی است :

$$CO_2(g) \rightarrow CO_2(d)$$
$$K_3 = \frac{[CO_2(d)]}{[CO_2(g)]}$$

PH سیستم بافری بیکربنات بستگی به غلظت HCO_3^-, H_2CO_3 اجزاء دهنده و گیرنده پروتون دارد . غلظت H_2CO_4 به نوبه خود بستگی به غلظت CO_2 حل شده داشته که این نیز وابسته به غلظت CO_2 در فاز گازی ، به نام فشار نسبی CO_2 می باشد . بنابراین PH بافر بیکربناتی در معرض فاز گازی ، نهایتاً توسط غلظت HCO_3^- در فاز آبی و فشار نسبی CO_2 در فاز گازی تعیین می گردد(کادر ۴-۴) .

پلاسمای خون انسان به طور طبیعی دارای PH نزدیک به ۷/۴ می باشد . ممکن است مکانیسمهای تنظیمی PH ناتوان شده و یا شدیداً درگیر شوند ؛ این حالت ممکن است در مبتلایان به دیابت کنترل نشده شدید رخ دهد که طی آن تولید بیش از حد اسید های آلی منجر به اسیدوز شده و PH خون ممکن است به زیر ۶/۸ سقوط نموده و در نتیجه منجر به آسیب سلولی جبران ناپذیر و مرگ گردد . در بیماریهای دیگر PH ممکن است تا میزان کشنده افزایش یابد .

هر چند بسیاری از ویژگی های ساختمانی و عملکردی سلول تحت تاثیر PH قرار می گیرند ، ولی این فعالیت کاتالیتیک آنزیم ها می باشد که حساسیت خاصی دارد . آنزیم ها به طور شاخص بیشترین فعالیت کاتالیتیک را در یک PH مشخص ، به نام PH مطلوب نشان می دهند (شکل ۱۹-۴) .

در هر طرف این PH مطلوب ، فعالیت کاتالیتیکی آنزیم ها اغلب به طور شدید کاهش می یابد . بنابراین ، یک تغییر کوچک در PH می تواند همراه با تفاوت بزرگی در سرعت بعضی واکنش های آنزیمی حیاتی باشد . از این رو ، کنترل بیولوژیک PH سلول ها و مایعات بدن اهمیت اساسی در تمامی جوانب متابولیسم و فعالیت های سلولی دارد .

آب به عنوان یک واکنشگر

آب نه تنها حلالی است که در آن واکنش های شیمیایی سلول های زنده رخ می دهد ، بلکه همچنین در بسیاری از موارد به عنوان یک شرکت کننده مستقیم در واکنش ها ایفاء نقش می نماید . تشکیل ATP از ADP و فسفات معدنی ، مثالی از یک واکنش کندانساسیون می باشد که در آن عناصر آب با اتصال دو ملکول به یکدیگر ، از میان آنها حذف می گردد . عکس این واکنش ، شکستن یک ملکول به دو ملکول با افزودن عناصر آب ، یک واکنش هیدرولیز می باشد . واکنش های هیدرولیز مسئولی دپلیمریزاسیون آنزیمی پروتئین ها ، کربوهیدرات ها و اسید های

نوکلئیک ، نیز هستند . واکنش های هیدرولیز توسط آنزیم هایی به نام هیدرولازها انجام شده و همیشه انرژی زا هستند . از این رو ، تولید پلیمرهای سلولی از زیر واحد های آنها توسط واکنش ساده عکس هیدرولیز ، انرژی گیرخواهد بود . همانطور که خواهیم دید ، سلول ها با جفت نمودن واکنش های کندانساسیون انرژی گیر با فرایند های انرژی زا ، نظیر شکستن پیوند انیدریدی در ATP این مانع ترمودینامیکی را برداشت می نمایند .

در هنگام مطالعه ، اکسیژن را مصرف می کنید . (البته امیدواریم !) دی اکسید کربن و آب ، محصولات انتهایی اکسیداسیون سوختهایی نظیر گلوکز می باشند . واکنش کلی به صورت زیر خلاصه می گردد .

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$$
$$Glu\cos e$$

بنابراین « آب متابولیک » تولیدی از مواد غذایی جامد یا سوخت های ذخیره شده ، آنقدر کافی می باشد که بدون خوردن آب ، امکان زنده ماندن حیواناتی (نظیر کانگورو ، موش صحرایی و شتر) را در مناطق بسیار خشکی فراهم می سازد که به طور طبیعی در آنها زندگی می کنند .

گیاهان و جلبک های سبز از انرژی نور خورشید برای شکستن ملکول آب در فرایند فتوسنتز استفاده می نمایند :

$$2H_2O + 2A \xrightarrow{\text{نور}} O_2 + 2AH_2$$

در این واکنش ، A یک ترکیب گیرنده الکترون می باشد که بر حسب نوع موجود فتوسنتیک متفاوت است .

مناسب بودن محیط آبی برای موجودات زنده

موجودات به طور موثری با محیط آبی خود تطبیق پیدا نموده اند و حتی امکاناتی برای بهره برداری از خصوصیات غیر معمول آن ایجاد کرده اند . دمای ویژه بالای آب (انرژی حرارتی مورد نیاز برای افزایش درجه حرارت یک گرم آب به اندازه $1^{\circ}C$) برای سلول ها و موجودات مفید می باشد ، زیرا این امکان را فراهم می سازد که آب به عنوان یک « بافر حرارتی » عمل نموده و درجه حرارت موجود را علیرغم تغییرات درجه حرارت هوا و همچنین تولید حرارت طی مسیرهای متابولیکی ، در میزان نسبتاً ثابتی حفظ نماید . به علاوه ، بعضی مهره داران از انرژی گرمایی بالای تبخیر آب (جدول ۱-۴) با استفاده از (و بنابراین از دست دادن) گرمای اضافی بدن تبخیر عرق ، بهره می برند .

گیاهان از شدت بالای چسبندگی داخلی آب مایع ، حاصل از پیوندهای هیدروژنی ، به عنوان وسیله ای برای انتقال مواد غذایی حل شده از ریشه ها به برگها ، طی فرایند بخار کردن استفاده می کنند . حتی چگالی کمتر یخ در مقایسه با آب مایع دارای نتایج بیولوژیک مهمی در چرخه های زندگی موجودات آبزی می باشد . حوضچه های آبی از بالا به پایین یخ می زنند و لایه یخ موجود در بالا ، آب زیر آن را در مقابل هوای سرد محافظت نموده و مانع از یخ زدن حوضچه (و موجودات آن) می گردد .

چیزی که برای تمامی موجودات اساسی تر می باشد آن است که بسیاری از خصوصیات فیزیکی و بیولوژیک ماکروملکول های سلولی ، به خصوص پروتئین ها واسیدهای نوکلئیک ، از واکنش های متقابل آنها با ملکول های آب محیط اطراف ، حاصل می گردند . اثر آب بر روی دوره تکامل بیولوژیک عمیق و تعیین کننده بوده است .

اگر اشکال مختلف حیات در محل دیگری از جهان ایجاد می شدند ، غیر ممکن بود که مشابه انواع موجود در زمین می شدند ، مگر اینکه در آن محل نیز آب به عنوان یک مایع به فراوانی در دسترس قرار می داشت .

قندها و پلی ساکاریدها

کربوهیدرات ها یا ساکاریدها یا گلوسیدها به گروهی از مواد آلی اطلاق می شودکه در طبیعت به وفور یافت شده و شامل انواع قندها، نشاسته، سلولز، دکسترین و صمغ ها می باشند. غالب این مواد در گیاهان وجود دارند و این دسته از مواد فراوان ترین دسته از بیوملکول ها ی موجود در طبیعت هستند. قندها و یا پلی ساکاریدها قسمت عمدهٔ غذای انسان را تشکیل داده و سهم مهمی در تأمین انرژی بدن بر عهده دارند. این ترکیبات علاوه بر نقش عمده در تأمین انرژی، نقش مهمی در مهمی در حفظ ساختارهای غشاهای سلولی و دیواره های سلولی خصوصاً در گیاهان دارند.

در گذشته به این ترکیبات،هیدرات کربن(کربوهیدرات ها) اطلاق میگردید زیرا تصور بر ان بود که در این ترکیبات نسبت هیدروژن به اکسیژن همانند آب می باشدو این ترکیبات در واقع کربنهایی آبدار هستند. فرمول کلی که برای این ترکیبات ارائه می گردید به صورت $(C_nH_2O)_n$ بود که در آن $n \geq 3$. ولی بعدها مشخص گردید که در بسیاری از قندها مثلاً رامنوز از این قاعده پیروی نکرده و فرمول شیمیایی این قند بصورت $C_6H_{12}O_5$ از قاعدهٔ فوق تبعیت نمی کند. لذا لزوم ارئهٔ یک تعریف جدید بر اساس خصوصیات شیمیایی در این ترکیبات مورد توجه قرار گرفت. بر طبق نظریه جدید، قندها ترکیباتی پلی هیدروکسی آلدئیدی یا پلی هیدروکسی کتونی هستند. در ملکول هر قند گروه های عاملی هیدروکسیل وکربونیل دیده می شود که این گروه کربونیل یا به فرم آلدئیدی یا به فرم کتونی در این ترکیبات دیده می شود.

کربوهیدرات ها، طی فرآیند فتوسنتز، فرآیند پیچیده ای که در آن نور خورشید انرژی لازم برای تبدیل دی اکسید کربن وآب به گلوکز و اکسیژن را فراهم می کند، توسط گیاهان سبز ساخته شده و سپس در اندام های ذخیره ای این موجودات ذخیره می گردند.

$$CO_2 + 6H_2O \longrightarrow 6O_2 + C_6H_{12}O_6 \text{ (گلوکز)} \longrightarrow \text{سلولز - نشاسته}$$

طبقه بندی کربوهیدرات ها

به دلیل وفور و تعدد ترکیبات قندی، لزوم یک طبقه بندی بر اساس خصوصیات شیمیایی این ترکیبات بسیار ضروری به نظر می رسد. بر اساس آخرین تقسیم بندی، کربوهیدراتها را به ۳ دستهٔ اصلی تقسیم بندی می نمایند:

A. **مونوساکاریدها یا قندهای ساده(simple Suger):** مونوساکاریدها یا قندهای ساده فقط دارای یک ملکول قند هستند و در اثر هیدرولیز نمی توان آنها را به قندهای ساده تری تبدیل کرد. این ترکیبات در واقع مشتقات آلدئیدی یا کتونی الکل های پلی هیدروکسی خطی هستند که حداقل دارای سه اتم کربن باشند.

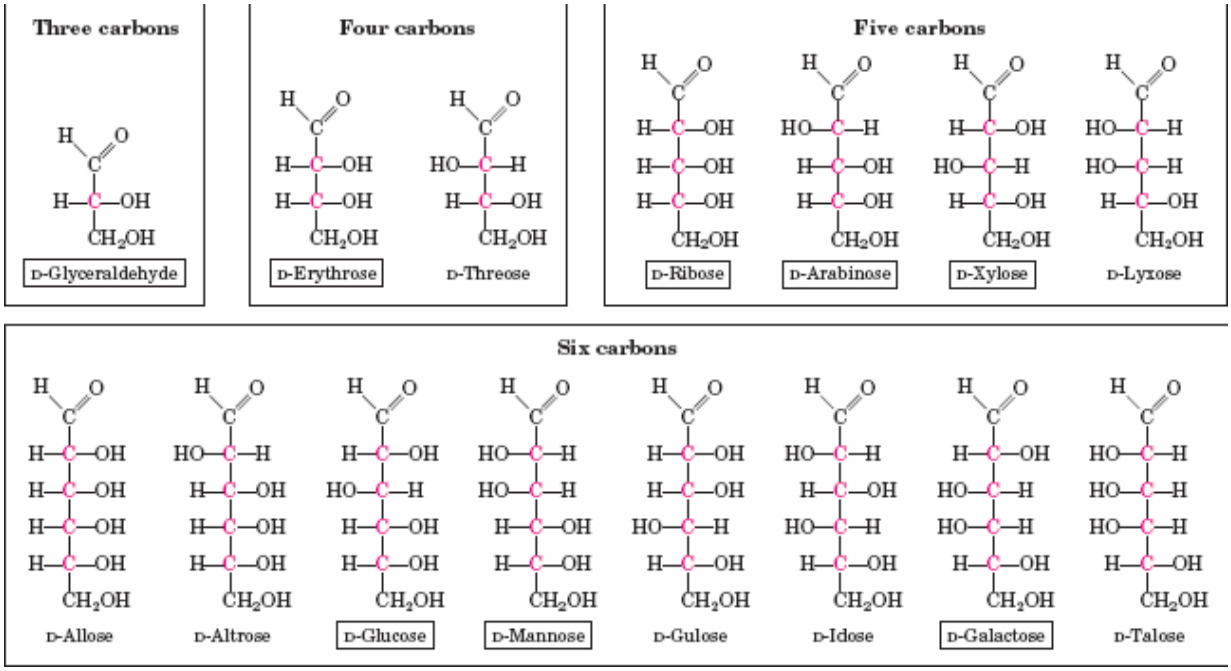
این دسته از خود بر اساس اینکه واجد چه نوع گروه کربونیلی (آلدئیدی یا کتونی) باشند، خود به دو دسته تقسیم می شوند:

۱) آلدوزها: که گروه کربونیل موجود در آنها گروه آلدئیدی است.(ose- در لاتین به معنای قند است)

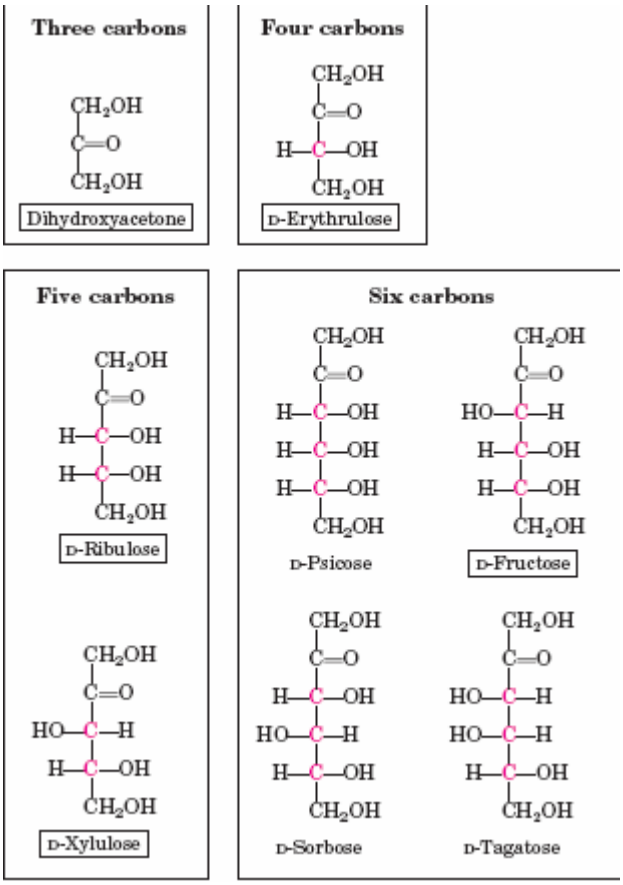
۲) کتوزها: که گروه کربونیل موجود در آنها گروه کتونی است.

آلدوزها و کتوزها بر حسب این که چه تعداد کربن در ساختارشان وجود داشته باشد، به دستجات مختلفی تقسیم می شوند. معمولاً مونوساکاریدها بین ۳ تا ۷ کربن فراوانترین و مهمترین مونوساکاریدها از لحاظ بیولوژیک هستند. بر حسب این تقسیم بندی می توان دستجات آلدوز و کتوز را به صورت زیر تقسیم بندی نمود:

۱-۱) آلدوزهای از ۳ تا ۷ کربنه تحت عنوان آلدوتریوز، آلدوتتروز، آلدوپنتوز، آلدوهگزوز و آلدوهپتوز نامیده می شوند که مثال های این دستجات به ترتیب عبارتند از: D-گلیسرآلدئید، D-اریتروز، D-پنتوز، D-ریبوز، D-گلوکز و D-هپتوز. در زیر مهمترین آلدوزها نشان داده شده است:



۱-۲) کتوزهای از ۳ تا ۷ کربنه تحت عنوان کتوتریوز، کتوتتروز، کتوپنتوز، کتوهگزوز، کتوهپتوز نامیده می شوند که مثال های این دسته به ترتیب عبارتند از: دی هیدروکسی استن، D-اریترولوز، D-ریبولوز، D-فروکتوز و D-هپتولوز در زیر مهمترین کتوزها نشان داده شده است:



B اولیگوساکاریدها (Oligosaccharides): پس از هیدرولیز ۲ تا ۱۰ ملکول مونوساکارید تولید می شود. در این دسته دی و تری ساکاریدها از اهمیت بیولوژیک بیشتری برخوردار هستند.

دی ساکاریدها که دستهٔ مهمی از اولیگوساکاریدها هستند، خود بر اساس داشتن خصلت احیا کنندگی به دو دسته تقسیم می شوند. دی ساکاریدهای احیا کننده، دی ساکاریدی است که در محلول توانایی احیای مس دو ظرفیتی (Cu^{2+}) داشته باشد. در حالی که دی ساکارید غیر احیا کننده فاقد این خصوصیت می باشد.

از انواع دی ساکاریدهای احیا کننده می توان به مالتوز، لاکتوز و سلوبیوز و از دی ساکاریدهای غیر احیا کننده می توان به سوکروز و تره هالوز اشاره کرد.

C پلی ساکاریدها (Polysaccharides): که در اثر هیدرولیز به واحدهای زیادی از قندها هیدرولیز میشوند.این گروه به دودسته هوموپلی ساکاریدها و هتروپلی ساکاریدها تقسیم می شوند. هوموپلی ساکاریدها در اثر هیدرولیز به واحدهای مشابه قندی تبدیل میشوندمثل نشاسته و گلیکوژن که از واحدهای گلوکز تشکیل شده اند. در حالی که هتروپلی ساکاریدها از واحدهای نامتشابه تشکیل شده اند. مثل هپارین، اسید هیالورونیک .

ایزومری در قندها

تعداد زیادی از مواد آلی وجود دارند که عناصر تشکیل دهندهٔ آنها بکلی با یکدیگر متاوت اند. به این پدیده ایزومری و به این مواد ایزومر می گویند. در شیمی آلی دو نوع ایزومری وجود دارد.

۱- **ایزومری ساختمانی (Structural isomerism):** عناصر تشکیل دهنده یکسان ولی ترتیب قرار گرفتن آنها در ملکول با یکدیگر مغایرت دارد. ایزومری موضعی (Positional isomerism) و ایزومری عاملی (Functional isomerism) از مثالهای این دسته هستند.

در ایزومری موضعی محل قرار گرفتن یک گروه یا بنیان در یک ترکیب با ترکیب دیگر متفاوت ایت. برای مثال n- بوتان و ۲- متیل پروپان مثال هایی از این نوع هستندکه در هر دو فرمول بستهٔ C_4H_{10} دیده می شود. در ایزومری عاملی تفاوت در یک گروه عاملی باعث ایجاد تفاوت می شود. برای مثال دو قند گلوکز و فروکتوز هر دو دارای فرمول بستهٔ $C_6H_{12}O_6$ هستند، ولی در گلوکزوجود گروه آلدئیدی و در فروکتوز وجود گروه کتونی باعث ایجاد خصوصیات متفاوت شده است.

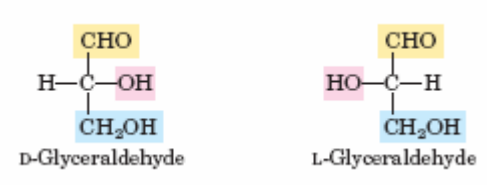
۲- **ایزومری فضایی (Stereo isomerism):** در این نوع ایزومری وضع قرار گرفتن گروه ها در فضا متفاوت است. این نوع ایزومری نیز به دو فرم ایزومری هندسی (Geometric) و ایزومری نوری (Optical) دیده می شود.
ایزومری هندسی: در این نوع ایزومری وضع قرار گرفتن گروه های مختلف در فضا در اطراف یک پیوند ثابت مثل پیوند دوگانه، متفاوت است، مثل ایزومری سیس (cis) و ترانس (trans). در این نوع ایزومری تنها با شکستن پیوند دوگانه امکان تبدیل یک فرم به فرم دیگر وجود دارد. ایزومری هندسی در قندها به دلیل عدم وجود بند دوگانه دیده نمی شود.
ایزومری نوری: ایزومرهایی هستند که در ساختمان ملکولی آنها یک کربن غیر متقارن (chiral) دیده می شود و محلول آنها می تواند نور پلاریزه را در جهات مختلف بچرخاند. کربن نامتقارن، کربنی است که ۴ ظرفیت آن به ۴ بنیان مختلف متصل باشد. برای مثال گلسرآلدئید دارای یک کربن نامتقارن است و به دو شکل مختلف دیده می شود. این دو شکل تصویر آیینه ای یکدیگرندیعنی با هم کاملاً مشابه و غیر قابل انطباق اند. هر دو نوع گلیسرآلدئید دارای خواص فیزیکی مشابه اند ولی محلول آنها یکی نور پلاریزه را به سمت چپ و دیگری نور پلاریزه را به سمت راست می چرخاند. سابقاً دو جسم را که تصویر آیینه ای یکدیگر و دارای فعالیت نوری بودند با علامت d به معنای dextrorotatory یا راستگردان و L به معنای Levorotatory یا چپگردان مشخص می کردند. امروزه این نامگذاری مطرود شده و به طور کلی گلیسرآلدئید با فرم

(الف) را D-گلیسرآلدئید و به فرم (ب) را L-گلیسرآلدئید می نامند.طبق پیشنهاد رزانوف، قندهایی که از D-گیسرآلدئید مشتق شده باشند، قندهای سری (D) و آنهایی که از L-گلیسرآلدئید مشتق شده باشند، سری (L) نامیده می شوند. بطور کلی هرگاه در ساختار خطی قندها آخرین گروه هیدروکسیل نوع دوم (گروه هیدروکسیلی که به کربن نوع دوم متصل شده باشد) در سمت راست زنجیرهٔ خطی قرار گرفته باشد، قند از سری D و اگر در سمت چپ ملکول قرار گرفته باشد سری (L) نامیده میشود. شماره گذاری کربن ها در زنجیرهٔ خطی از سمت گروه کربونیل آغاز می گردد. طبق این قرارداد D و L برای روشن ساختن شکل فضایی قندهاست و چنانچه قصد بر نشان دادن جهت چرخش نور پلاریزه باشد از علامت های (+) و (–) نشان داده می شود. قندهایی که بطور طبیعی در بدن انسان یافت میشود و آنزیم های متابولیکی بر آن موثرند از سری D هستند. به چنین ایزومرهایی که تصویر آیینه ای یکدیگرند اصطلاحاً انانتیومر (Enantiomer) گفته میشود.(شکل)

اگر به مقدار مساوی از فرم D یک ماده با فرم L همان ماده مخلوط شود، مخلوط راسمیک(Racemic) بدست می آیدکه قدرت چرخش نور پلاریزه آن صفر است. میزان چرخش نور پلاریزه با استفاده از دستگاه پلارمتر (Polarimeter) اندازه گیری می شود. کمیتی که توسط این دستگاه اندازه گیری میشود تحت عنوان چرخش ویژه (Specific rotation) نامیده میشود و به صورت زیر محاسبه می گردد:

$$[\alpha]_D^{25} = \frac{\text{چرخش مشاهده شده بر حسب درجه}}{\text{غلظت } \left(g/cm^3\right) * \text{طول سیر نور } [dm]}$$

عدد ۲۵ نشان دهندهٔ دمای انجام ازمایش و D نشان دهندهٔ نور مونوکروم استفاده شده در دستگاه است که عمدتاً خط D طیف سدیم است.



ساختار فضائی D و L گلیسرآلدئید

اگر جسمی با کربن های غیر متقارن داری سطوح و یا مراکز متقارن باشد از نظر خواص نوری غیر فعال بوده و اشکال Me so نامیده می شود.

اگر در یک ملکول بیش از یک کربن غیر متقارن وجود داشته باشد، تعداد ایزومرهای نوری آن 2^n می باشد که در آن n تعداد کربن نامتقارن می باشد.

در زیر تعداد ۸ ایزومرسری D قندهایی که دارای ۴ کربن نامتقارن هستند را مشاهده می نمائید. این دسته که شامل آلدوهگزوزهاست، دارای ۸ ایزومر دیگر نیز می باشد که جزء دستهٔ L تقسیم بندی می گردد.

فیزر روش زیر را برای به خاطر سپردن نام و ساختار هشت D-آلدوز به صورت زیر بیان کرده است:

مرحلهٔ ۱) هشت ساختار خطی (نمایش فیشری) رسم کنید که در آن CHO– در بالا و گروه- CH_2OH در پایین باشد.

مرحلهٔ ۲) استریوشیمی C_5 با قرار دادن ۸ گروه OH– در سمت راست (سری D) مشخص کنید.

مرحلهٔ ۳) استریوشیمی C_4 را با قرار دادن چهار گروه OH– در سمت راست و چهار گروه OH– در سمت چپ مشخص کنید.

مرحلهٔ ۴) استریوشیمی C_3 را با قرار دادن ۲ گروه OH– در سمت راست و ۲ گروه OH– در سمت چپ، الی آخر مشخص کنید.

مرحلهٔ ۵) استریوشیمی C_2 را با قرار دادن گروخ OH– در سمت راست وچپ الی آخر مشخص کنید.

مرحلهٔ ۶) سپس هشت ایزومر را با استفاده از عبارت زیر که در بر گیرندهٔ حروفی از نام هر یک از هشت ایزومر است را به خاطر بسپارید:

« All altruists gladly make gum in gallon tanks»

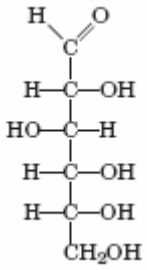
برای فهم بهتر به تصاویر آلدوهگزوزهای رسم شده دقت نمائید.

همان طور که در شکل مشاهده می شود ، بسیاری از ترکیبات زیر تصویر آیینه ای یکدیگر نمی باشند ولی ایزومر یکدیگر محسوب می گردند چرا که همه دارای فرمول بستهٔ $C_6H_{12}O_6$ هستند. به چنین ایزومرهایی که تصویر آیینه ای یکدیگر نیستند، اصطلاحاً دیاستومر (Diasteroisomer) نامیده می شوند.

دیاستومرهایی که در شکل فضایی تنها در آرایش گروه هیدروکسیل یک اتم کربن تفاوت داسته باشند، اپیمر (Epimer) نامیده می شوند. برای مثال مانوز اپیمر ۲ گلوکز و گالاکتوز اپیمر ۴ گلوکز است.

ساختمان حلقوی در قندها

این بار فیشر روشی برای مشخص کردن آرایش گروه های هیدروکسیل بر روی قندها ارائه داد که بصورت زیر است:

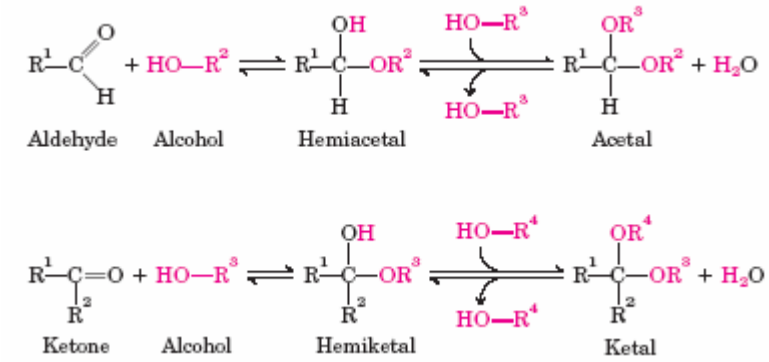


آرایش فیشری گلوکز(Glucose)

بعدها مشخص شد که فرمول خطی پیشنهادی فیشر به تنهایی پاسخگوی خصوصیات ویژۀ قندهایی مثل گلوکز نسیت. زیرا اگر گلوکز به صورت خطی وجود داشت، در تمام واکنش ها آلدئیدی و گروه های پلی هیدروکسی شرکت میکرد، در صورتی که گلوکز با معرف شیف (schiff) و یا بی سولفیت سدیم وارد واکنش نمی شود. مشخص گردید که قندها در محلول به فرم ساختار حلقوی دیده می شوند.

در ترکیبات شیمیایی مشخص شده گروه های کربونیل مثل گروه های آلدئیدی و کتونی با گروه های الکلی واکنش داده و تولید ترکیباتی موسوم یه همی استال (Hemi acetal) و همی کتال (Hemi ketal) می نماید.

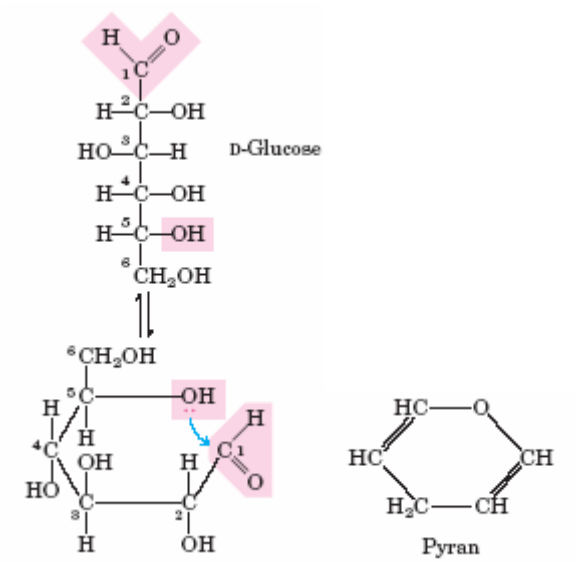
همی استال و همی کتال در مجاورت اسید با ملکول دوم الکل ترکیب می شود و تولید استال و یا کتال می نماید.



واکنش تشکیل همی کتال،کتال،استال وهمی استال

در قندها نیز گروه های آلدئیدی و کتونی می توانند با گروه الکلی ترکیب و تشکیل همی استال و یا همی کتال درونی نموده و به شکل حلقوی درآیند.

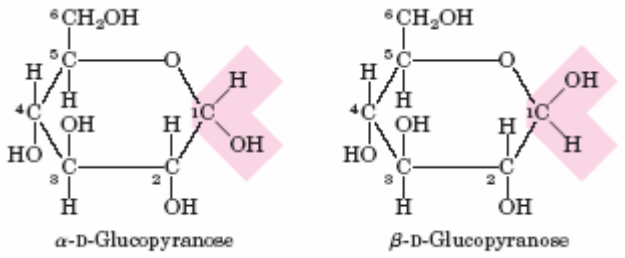
در این تبدیل، گلوکز به شکل خطی به تعداد بسیار کم وجود دارد. تشکیل ساختار حلقوی در قندها صور گوناگون ممکن است صورت پذیرد. تحقیقات نشان داده است که در آلدوزها پایدارترین فرم حلقوی زمانی ایجاد می شود که گروه آلدئیدی (کربن شمارۀ ۱) با گروه الکلی متصل با کربن شمارۀ ۵ واکنش دهد. در اثر این واکنش، ساختاری شش ضلعی تشکیل می کرددکه به دلیل شباهت به ساختار ترکیب پیران، به قندهایی که دارای چنین ساختاری هستند،اصطلاحاً پیرانوز می گویند.



تبدیل گلوکز به فرم حلقوی و تشکیل ساختار پیرانوزی

تشکیل ساختار شش ضلعی (پیرانوزی) در قندی مثل گلوکز باعث ایجاد یک کربن نامتقارن دیگر یعنی کربن شمارهٔ ۱ می شودکه در نتیجهٔ آن نوع جدیدی از ایزومری موسوم به آنومری (Anomer) ایجاد می گردد. کربن شمارهٔ ۱را دراین حالت اصطلاحاً کربن Anomeric گفته می گویند. آرایش گروه هیدروکسیل بر روی این کربن باعث ایجاد دو آنومر α و β می گردد.

اگر این گروه هیدرکسیل، با گروه هیدروکسی متیل متصل به کربن ۵ همسو باشد،یعنی یا هر دو بالای صفحهٔ پیرانوز و یا هر دو پایین صفحه باشند،ایزومر حاصل را آنومر βو اگر غیر همسو باشند به آن آنومرαگفته می شود.

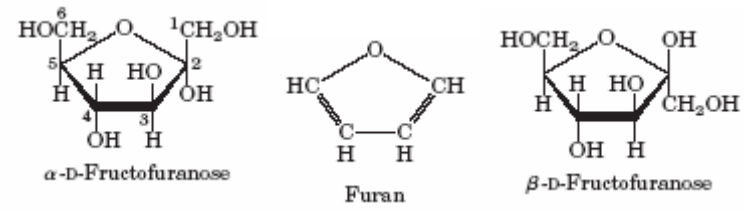


فرم آلفا و بتای گلوکز

در محلول این دو نوع آنومر دائماً به یکدیگر تبدیل می شوند. این تبدیل با باز شدن حلقه و خطی شدن ملکول و سپس بسته شدن آن مجدد آن صورت می گیرد. به این پدیده موتاروتاسیون (Mutarotation) می گویند. این پدیده در سلول توسط آنزیم های موتاروتاز صورت می گیرد.فرم α و βی هر قند در محلول به حالت تعادل دیده می شوند. برای مثال در محلول گلوکز ۶۳٪ به فرم β و ۳۶٪ به فرم α و ۱٪ به فرم خطی مشاهده می شود.قدرت چرخش فرم α، $113^{o}+$ و فرم β $19^{o}+$ است.

اگر تشکیل پیوند همی استال در ملکولی مثل گلوکز، بین کربن ۱ و ۴ صورت پذیرد ساختاری ۵ ضلعی بدست می آیدکه در آلدوزها پایدار نیست. این گونه نمایش ساختاری در قندها را اصطلاحاً نمایش هاورث می گویند.

در کتوزها تشکیل پیوند همی کتال در پایدارترین حالت بین کربن شمارهٔ ۲ که واجد گروه کربونیل است و گروه هیدروکسیل کربن شمارهٔ ۵ صورت می پذیرد که این امر باعث تشکیل یک ساختار ۵ ضلعی می شود که به دلیل شباهت با ساختمان فوران، به این قندها اصطلاحاً قندهای فورانوزی می گویند.



ساختار پنج ضلعی در فروکتوز

در این ساختارها کربن شمارهٔ ۲، کربن آنومری محسوب می گردد که هرگاه گروه هیدروکسیل متصل به آن با گروه هیدروکسی متیل متصل به کربن ۵ همسو باشد، آنومر β و در غیر این صورت آنومر α نامیده می شود.

خواص شیمیایی مونوساکاریدها

مونوساکاریدها به دلیل داشتن گروه عاملی هیدروکسیل و کربونیل بر روی سطح خود در بعضی از واکنش های خاص این گروه ها شرکت می نمایند که به چند مورد از آنها اشاره می گردد:

۱. واکنش با فنیل هیدرازین: کربوهیدراتهایی که دارای گروه کربونیل و یا همی استال هستند، با فنیل هیدرازین ترکیب شده و تشکیل هیدرازون و سپس اوزازون می نماید.اوزازون ها مواد متبلوری هستند که در حلالها نا محلول می باشند. شکل بلورهای اوزازون و نقطهٔ ذوب آنهامعین و با یکدیگر متفاوت است. از این خاصیت برای شناسایی قندها استفاده می شود.

۲. واکنش سیانیدرین: از ترکیب مونو ساکاریدها با اسید سیانیدریک HCN یک کربن نامتقارن جدید به ملکول مونوساکارید اضافه می شودکه در اثر هیدرولیز به طور مساوی تولید مخلوطی از دو اپیمر اسید مربوطه می نماید. این دو اسید را می توان از مخلوط جدا کرده و به قندهایی با یک اتم کربن بیشتر تبدیل کرد.(شکل)

۳. ترکیب با هیدرکسیل آمین (NH_2OH): با آلدوزها وکتوزها ترکیب و تولید oxime می نماید. اکسیم ها در آب محلولند و برای تشخیص نوع قند اهمیتی ندارد. اهمیت اکسیم ها در تهیهٔ قندهای با یک کربن کمتر است.(تنزل وهل) (شکل)

۴. واکنش احیا: قندها در مجاورت مواد احیا کننده، احیا شده و گروه کربونیل آنها با تبدیل به گروه الکلی، ترکیبات مختلفی راسنتز می نماید که در صنعت کاربرد فراوانی دارند. برای مثال از احیاء گلوکز، ترکیب گلوسیتول یا سوربیتول بدست می آید.از احیاء فروکتوز مخلوطی از مانبتول و گلوسیتول و از احیای ریبوز، ریبیتول بدست می آید.

۵. واکنش های اکسیداسیون: آلدوزها در اثر اکسیده شدن تولید اسیدهای آلدونیک، اسیدهای ساکاریک و اسیدهای اورونیک مینمایند.تولید این قندها بسته به شرایط اکسیداسیون متفاوت میباشداین فرمهای اکسیده به صورته زیر تهیه میگردند:

الف) اسیدهای آلدونیک: اگر شرایط اکسیداسیون ملایم باشد، یعنی از یک اکسیدکننده ضعیف مثل آب برم (Br_2) استفاده شود تنها عامل آلدئیدی آلدوزها اکسید شده و اسیدهای آلدنیک بدست می آید.(شکل) بدین ترتیب از گلوکز، اسید گلوکونیک و از گالاکتوز، اسید گالاکتونیک بدست می آید. اگر نمک کلسم اسید آلدونیک در مجاورت آب اکسژن و یون Fe^{+3} اکسید شود، گاز کربنیک متصاعد شده و قندی با یک کربن کمتر بدست می آید. به این فرایند تنزل راف (ruff) می گویند.

در پزشکی گلوکتات کلسیم را برای بالا بردن مقدار کلسیم خون از طریق تزریق وریدی بکار می برند.

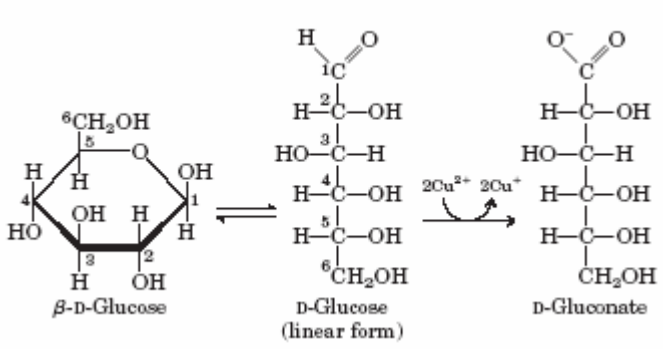
ب) اسیدهای ساکاریک یا آلداریک (Aldaric acid):کربن شمارهٔ یک و شمارهٔ شش آلدوزها با اسید نیتریک گرم اکسید شده و تولید اسیدهای دی کربوکسیلیک می نماید. به این اسیدها اصطلاحاً اسیدهای ساکاریک گفته می شود. با این توصیف از اکسیداسیون گلوکز با این روش، اسید گلوکز ساکاریک یا گلوکاریک و از گالاکتوز، اسید گالاکتوز ساکاریک یا اسید گالاکتوکاریک (اسید موسیک) بدست می آید.(شکل)

ج) اسیدهای اورونیک (Uronic acids): اگر بتوان با استفاده از یک عامل شیمیایی، گروه آلدئیدی در آلدوزها را مسدود و غیر فعال نمود و در مجاورت مواد اکسیدکننده تنها گروه الکلی نوع اول اکسید شده و بنابراین یک اسید مونوکربوکسیلیک موسوم به اسید اورونیک بدست می آید. با این روش از گلوکز، اسید گلوکورونیک و از گالاکتوز، اسید گالاکتورونیک تولید می شود. سنتز اسید کلوکورونیک در بدن بصورت آنزیمی و توسط آنزیم گلوکز دهیدروژناز صورت می گیرد. این ترکیب به جهت دفع بیلی روبین حاصل از کاتابولیسم هم نقش مهم بر عهده دارد.

۶. اثر سود غلیظ بر مونوساکاریدها: کربوهیدرات هایی که دارای گروه کربونیل هستند در مجاورت سود غلیظ ناپایدارند و در نتیجه ملکول آنها از هم متلاشی شده و به مواد مختلف تبدیل می شود.

۷. اثر سود غلیظ بر مونوساکاریدها: کربوهیدراتهایی که دارای گروه کربونیل هستند، در مجاورت سود غلیظ ناپایدارند و در نتیجه ملکول آنها از هم متلاشی شده و تولید نمکهای اندیول (Enediol) می نماید. گلوکز، مانوز و فروکتوز یک نوع اندیول تولید می نمایند. اندیول های تولیدی این امکان را دارند که از طریق واکنش های توتومریزاسیون به هر سه نوع قند تبدیل شوند یعنی اگر در یک محلول قلیایی رقیق تنها یک نوع از این سه قند اضافه گردد، پس از مدتی هر سه قند در محلول دیده می شود. این عمل تبدیل قندها به یکدیگر، به واکنش ایکنشتاین معروف است.

۸. خاصیت احیا کنندگی قندها :در محلول های قلیایی آلدوزها و کتوزها در محلولهای قلیایی به علت اندیول همانند احیا کننده ها خاصیت احیا کنندگی دارند و می توانند یون های اکسید شده مثل Bi^{3+} ،Hg^{2+} ،Cu^{2+} را احیا نمایند. از این خاصیت برای شناسایی و تعیین مقدار قندها استفاده می شود. بدین ترتیب که قند ها در اثر حرارت با محلول های قلیایی محتوی یون مس رسوب زرد یا قرمز رنگی تولید می نماید.

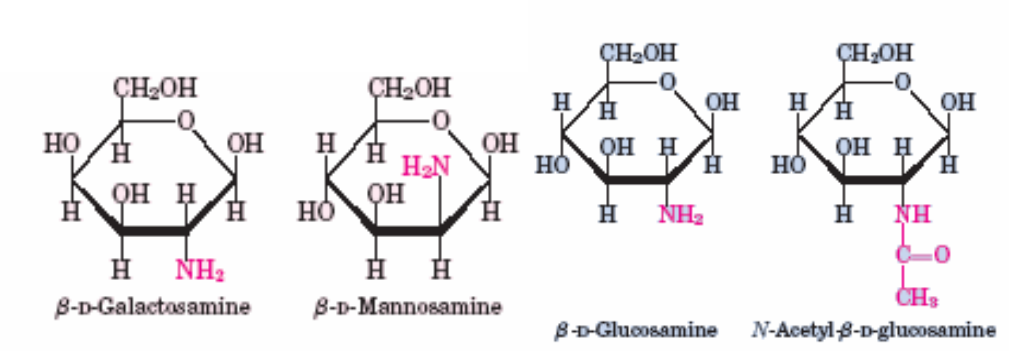


۹. اثر اسیدها بر کربوهیدرات ها: پلی ساکارید ها و کربوهیدرات های مرکب در مجاورت اسیدها هیدرولیز شده و به قندهای ساده تبدیل می شوند. مونوساکاریدها در مجاورت اسیدهای قوی آب از دست می دهند و ایجاد فورفورال یا مشتقات آن را می نمایند.فورفورال و مشتقات آن در محیط های اسیدی با فنیل ترکیب شده و ترکیبات رنگی تولید می نمایند که برای شناسایی قندها به کار می رود.

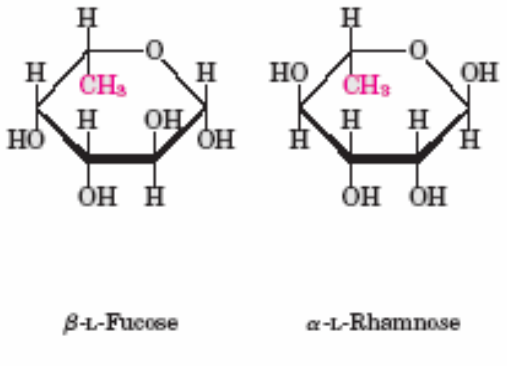
۱۰. تشکیل گلیکوزیدها (Glycosides): چون آلدوزها وکتوزها دارای یک گروه همی استال و یا همی کتال هستند، در مجاورت HCl و متانول تولید استال و یا کتال مربوطه را می نمایند. استال حاصل از همی استال را آلدوزید (Aldoside) و کتال حاصل از همی کتال را کتوزید (Ketoside) می نامند. نام عمومی آلدوزید و کتوزید، گلیکوزید است.(شکل)

۱۱. تشکیل اتر: گروه هیدروکسیل قندها به آسانی قابل اتری شدن است. قندهای اتری شدهٔ مختلفی در بدن تولید می شود. اتری شدن قند از مراحل اصلی در مسیرهای متابولیکی این ترکیبات است.(شکل)

۱۲. قندهای آمینه(Amino Suger): قندهای آمینه به قندهایی گفته می شود که غالباً به جای یک گروه هیدروکسیل آنها، گروه آمینی نشسته باشد. قندهای آمینهٔ تعددی تهیه شده اند. از مهمترین این ترکیبات می توان به D-گلوکز آمین (۲-آمینو ۲-دزوکسی D-گلوکز) و یا D-گالاکتوز وئ یا اسید سیالیک (اسید نورامینیک) اشاره کرد.در بسیاری از موارد گروه آمینی به طور مستقیم به کربن اتصال نداردف بلکه با اتصال به یک گروه استیل به آن متصل شده است. از مهمترین آنها به N-استیل گلوکز آمین اشاره کرد.



۱۳. قندهای دزوکسی: قندهایی هستند که به جای یک یا چند گروه هیدروکسیل، تنها یک اتم هیدروژنجایگزین شده است. از مهمترین دستهٔ این ترکیبات می توان به دزوکسی ریبوز (۲-دزوکسی D-ریبوز) و یا L-فوکوز (۶-دزوکسی-L گالاکتوز) و یا L-رامنوز(۶-دزوکسی L-مانوز) اشاره کرد.



ساختمان شیمیائی فوکوز و رامنوز

اولیگوساکاریدها

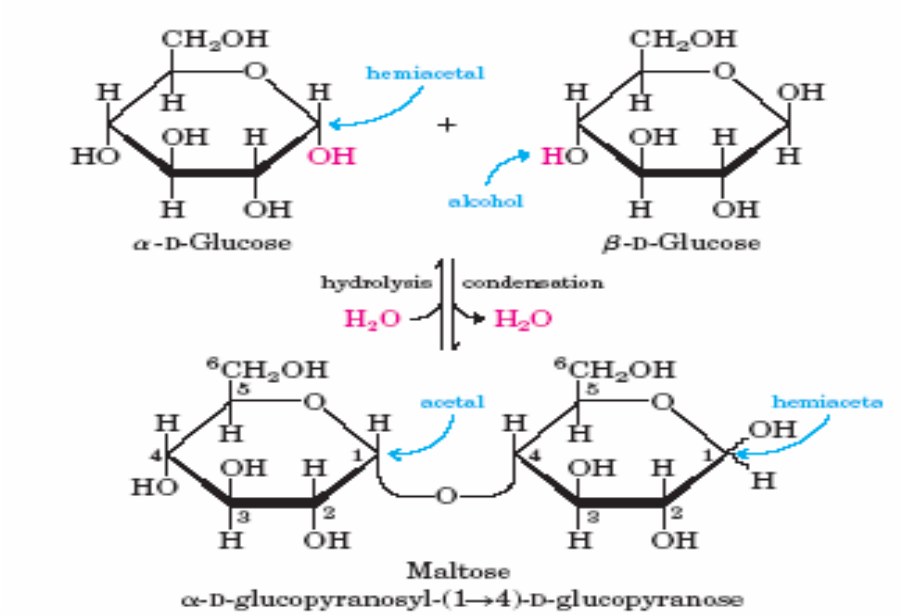
اولیگوساکاریدها که از ۲ الی ۱۰ ملکول مونوساکاریدی تشکیل شده اند، دستهٔ دیگری از قندها یا کربوهیدراتها هستند. اگر دو مونوساکارید از طریق پیوند استال و یا کتال به یکدیگر متصل شوند (اتصال آلفا یا بتا)، جسم حاصل را دی ساکارید می نامند.

دی ساکاریدها همانطور که گفته شد، به دو دستهٔ احیا کننده و غیر احیا کننده تقسیم می شوند. اگر اتصال دو واحد مونوساکاریدی به یکدیگر طوری باشد که در اثر این اتصال کربن های آنومری هر دو قند در تشکیل پیوند استال شرکت داشته باشند، در نتیجه این چنین دی ساکاریدی امکان خطی شدن و قدرت احیا کنندگی خود را از دست می دهد و به آن دی ساکارید غیر احیا کننده می گویند. در صورتی که اگر یکی از مونوساکاریدها دارای کربن آنومری آزاد باشد،ملکول دی ساکارید می تواند از طرف آن واحد مونوساکاریدی خطی شده و قدرت احیا کنندگی داشته باشد. به چنین دی ساکایدهایی، احیا کننده می گویند.

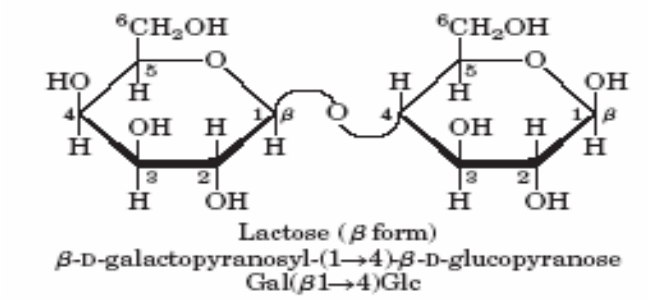
در زیر با چند نوع دی ساکارید مهم آشنا می شویم:

الف) دی ساکاریدهای احیا کننده

۱. مالتوز (Maltose): مالتوز از دو ملکول گلوکز با اتصال گلیکوزیدی از نوع (4 ←α(1 تشکیل شده است.این قند از هیدرولیز نشاسته توسط آمیلاز و یا اسید بدست می آید. مالتوز مالتوز به علت دارا بودن یک کربن آنومری آزاد (گروه همی استال)، احیا کننده بوده و در حلالها خاصیت تغییر در چرخش نور یا موتاروتاسیون را نشان می دهد.

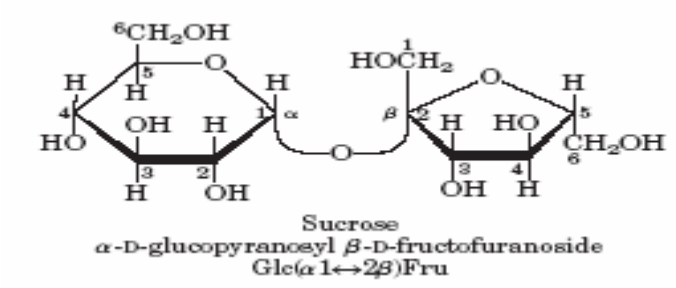


۲. لاکتوز(Lactose): یا قند شیر از دو واحد قندی گلوکز و گالاکتوز تشکیل شده است که با اتصال گلیکوزیدی از نوع (4 ← β(1 به یکدیگر متصل هستند. لاکتوز در مجاورت مخمر، تخمیر نمی شود و در دمای بدن به دو شکل آلفا و بتا لاکتوزوبه نسبت ۲ به ۳ دیده می شود.



ب) دی ساکارید غیر احیا کننده

۱. سوکروز (Sucrose): از مهمترین دی ساکاریدهای غیراحیا کننده است که در میوه ها و نباتات به تعداد فراوان یافت می شود و در صنعت از نیشکر و چغندر قند به دست می آید. این قند از یک ملکول گلوکز و یک ملکول β-فروکتوز تشکیل شده است. ساکاروز در اثر هیدرولیز با اسید رقیق و یا هیدرولیز با آنزیم اینورتاز(Invertase)به گلوکز و فروکتوز تجزیه می شود. به این قند اصطلاحاً Invert sugar نیز گفته می شود، چراکه محلول آن دارای قوۀ چرخش (-) است که در اثر عمل هیدرولیز و تبدیل به گلوکز و فروکتوز، قوۀ چرخش محلول (+) می گردد.



پلی ساکاریدها

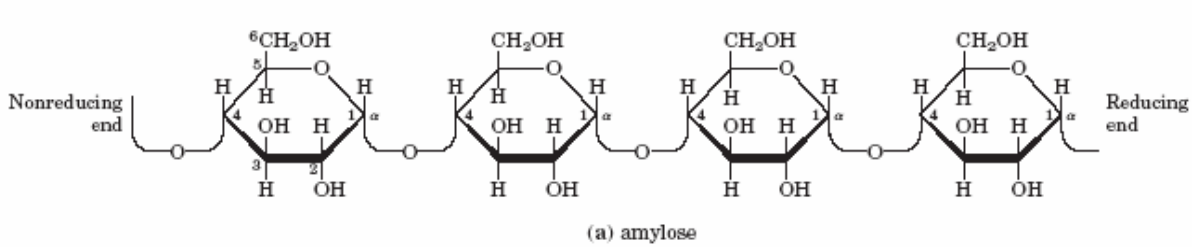
پلی ساکاریدها که به آنها گلیکان (Glycan) نیز گفته می شود از واحدهای زیادی از مونوساکارید متصل به یکدیگر تشکیل شده است. این ترکیبات بر اساس نوع واحدهای سازنده، همانطور که گفته شد به دو دسته هوموپلی ساکارید و هتروپلی ساکارید تقسیم می شوند. هوموپلی ساکاریدها نیز بر اساس نوع واحدهای سازنده تقسیم بندی می شوند. برای مثال گلوکان ها (Glucan) پلیمرهایی از گلوکوز وگالاکتان ها (Galactans) پلیمر هایی از گالاکتوز محسمب می گردند.

پلی ساکاریدها بر خلاف دو نوع پلیمر زیستی دیگر، یعنی پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک، دارای اشکال شاخه دار نیز هستند. دلیل این امر آن است که پیوند گلیکوزیدی که دو واحد قندی را به یکدیگر متصل می کند، می تواند بین هر دو گروه هیدروکسیل همی استال یا همی کتال در قندها تشکیل شود.

در زیر به ساختار و خصوصیات چند پلی ساکارید مهم می پردازیم:

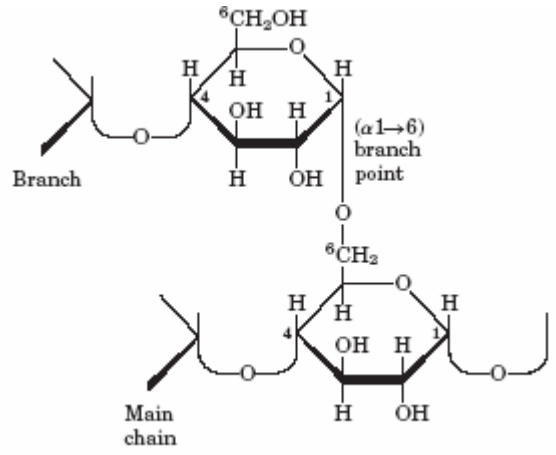
الف) نشاسته (Starch): نشاسته مخلوطی از گلوکان ها است که توسط گیاهان سنتز شده و ذخیرۀ اصلی غذایی آنهاست. این ترکیب در سیتوپلاسم سلول های گیاهی به صورت گرانول هایی از ترکیباتی موسوم به آلفا- آمیلوز (α-Amylose) و آمیلوپکتین (Amylopectin)ذخیره می گردد. آلفا-آمیلوز یک پلیمر خطی از چند صد واحد گلوکز است که با اتصال گلیکوزیدی از نوع

α(1 ➔4) به یکدیگر متصل اند. آمیلوز به طور کامل در آب محلول نیست و در آب تشکیل میسل های هیدراته را می نماید. این میسل ها با یُد تولید رنگ آبی می نمایند.



ساختمان آمیلوز

برخلاف آمیلوز، آمیلوپکتین دارای ساختاری منشعب و شاخه دار است که در آن زجیرهٔ اصلی واجد پیوندهای گلیکوزیدی از نوع α(1➔ 4) بوده و در نقاط انشعاب واحدهای گلوکز با اتصال α(1 ➔6) به یکدیگر متصل هستند. نقاط انشعاب در بین هر ۲۴ تا ۳۰ واحد گلوکوز ایجاد می گردد. ملکول های آمیلوپکتین از حدود 10^6 واحد گلوکز تشکیل شده اند. ذخیرهٔ گلوکز به فرم نشاسته در سلول های گیاهی باعث کاهش فشار اسمزی درون یلول های گیاهی شده و در نتیجه آنها را از لیز شدن در اثر ورود آب به سلول حفاظت می نماید. آمیلوپکتین مانند آمیلوز در آب تشکیل میسل های هیدراته را می دهد که با محلول یُد به رنگ قرمز مایل به بنفش را تولید می نماید.



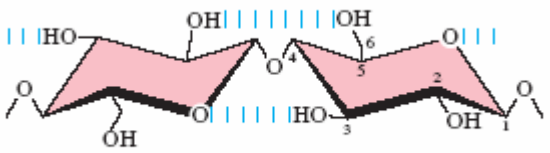
ساختمان آمیلوپکتین

هضم نشاسته بعنوان مهمترین منبع کربوهیدرات غذایی انسان در دهان آغاز می گردد. در بزاق آنزیم α-آمیلاز که به آن پتیالین نیز گفته می شود، بصورت تصادفی پیوندهای گلیکوزیدی α(1➔ 4) را هیدرولیز کرده و این هیدرولیز تا واحدهای قندی مجاور نتاط انشعاب صورت می پذیرد. با ورود تودهٔ غذایی به معده اسیدیتهٔ معده باعث غیر فعال شدن آنزیم α-آمیلاز شده و در نتیجه هضم نشاسته متوقف می گردد. با ورود مواد غذایی به رودهٔ کوچک، α-آمیلاز پانکراس که مشابه فرم بزاقی است، ترشح می شود. این آنزیم باعث تجزیهٔ نشاسته به مخلوطی از ترکیباتی مثل مالتوز و یا تری ساکاریدی مثل مالتوتریوز (Maltotriose) و یا اولیگو ساکاریدهایی مثل

دکسترین ها (Dextein) می شود. این ترکیبات توسط آنزیم های اختصاصی مثل α-گلوکوزیداز و α- دکستریناز و آنزیم شاخه شکن (Debranching enzyme) به واحدهای مونومری شکسته می شود.

ب) گلیکوژن (Glycogen): گلیکوژن پلی ساکارید ذخیره ای در حیوانات است که در تمام سلول ها خصوصاً سلول های ماهیچه ای وکبدی به صورت گرانول های سیتوپلاسمی دیده می شود. ساختمان گلیکوژن بسیار شبیه آمیلوپکتین است با این تفاوت که گلیکوژن دارای ساختاری به مراتب منشعب تر از آمیلوپکتین می باشد. گلیکوژن خالص به صورت گرد سفید رنگی است که در آب تقریباً نامحلول است و چنانچه با آب مخلوط گردد، محلول کلوئیدی تشکیل می گردد. محلول این ترکیب با یُد تولید رنگ قهوه ای می نماید.

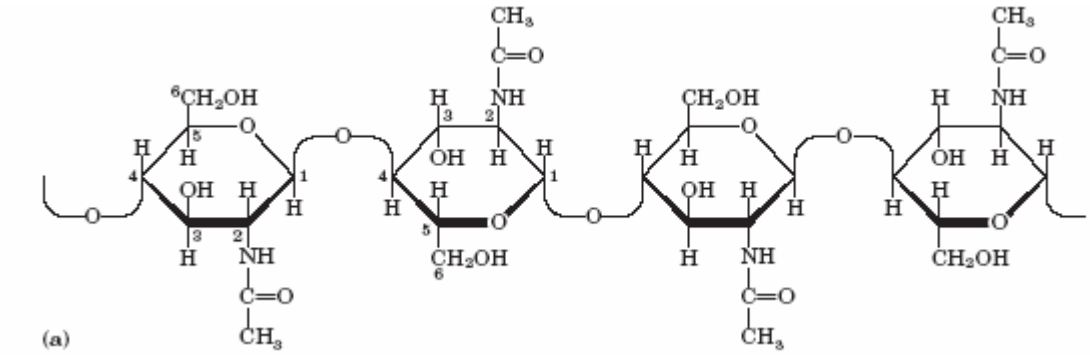
ج) سلولز (Cellulose): سلولز یک پلی ساکارید ساختمانی است که بر خلاف دو فرم قبلی در انسان، ذخیره یا مصرف نمی شود. حدود پنجاه درصد از مواد آلی طبیعت از سلولز تشکیل شده است. ساده ترین و فراوانترین پلی ساکاریدی است که در گیاهان دیده می شود. پنجاه درصد چوب از سلولز است و پنبه به طور صد در صد از سلولز تشکیل شده است. سلولز در اثر هیدرولیز کامل به گلوکز تبدیل می شود ولی در اثر هیدرولیز ناقص، تولید یک دی ساکارید احیا کننده به نام سلوبیوز (Cellobiose) را می نماید. که درون آن واحدهای گلوکز با اتصال گیکوزیدی β(1 ⟵4) تشکیل شده اند. هر ملکول سلولز از حدود ۱۵۰۰۰ واحد گلوکز تشکیل شده است. اگرچه مهره داران به تنهایی قادر به استفاده از ترکیباتی مثل سلولز که واجد پیوندهای β(1⟶ 4) هستند، نمی باشند. ولی میکرواورگانیسم های همزیست در روده های این موجودات واجد آنزیم هایی هستند که اصطلاحاً به آنها سلولاز (Celloulase) می گویند، تجزیه شده و این میکرواورگانیسم ها بعضی از ترکیبات ضروری بدن موجودات میزبان، مثل ویتامین K را به آنها تحویل می دهند.



(β1→4)-linked D-glucose units

ساختمان شیمیائی سلولز

د) کیتین(Chitin): جزء اصلی اسکلت خارجی بدن حشرات است. این ترکیب از پلیمریزه شدن واحدهای مونومری N-استیل D-گلوکز آمین با پیوندهای β(1⟶4) تشکیل شده است.

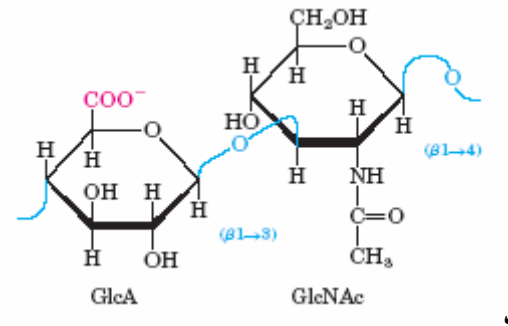


ساختمان شیمیائی کیتین

۲) هترو پلی ساکاریدها یا گلیکوزآمینو گلیکانها (Glycosaminoglycans):

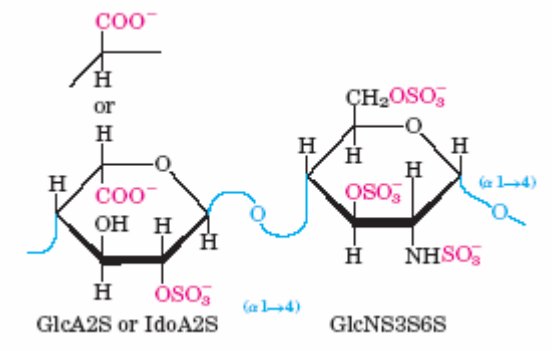
قندهای خارج سلولی، خصوصاً بافت های پیوندی مثل غضروف، تاندون، پوست و دیوارهٔ مویرگ های خونی حاوی رشته های کلاژن و الاستین است که در یک مایع ژل مانند به نام مادهٔ زمینه ای (Ground substance) قرار دارد. مادهٔ زمینه ای بطور عمده از ترکیباتی موسوم به گلیکوزآمینوگلیکان (موکوپلی ساکارید) تشکیل یافته است که پلیمرهایی از اسیدهای اورونیک قندها و واحدهای هگزوزآمینی هستند. محلول های حاوی گلیکوزآمینوگلیکان ها، ساختاری موکوس مانند با ویسکوزیته و الاستیسیته بالا دارند. و در زیر به ساختار و نقش چند نوع از آنها اشاره می نمائیم:

الف) هیالورونیک اسید(Hyaloronic acid): هیالورونیک اسید یا هیالورونین، یکی از ترکیبات بسیار مهم مادهٔ زمینه ای است. این ترکیب در کپسول اطراف بعضی از باکتری ها دیده می شود. هیالورونیک ااسید از حدود ۲۵۰ تا ۲۵۰۰۰ واحد های دی ساکاریدی D- گلوکورونیک اسید و N- استیل D- گلوکزآمین که با اتصالات β(1 ⟶4) به یکدیگر متصل شده اند. هر واحد دی ساکاریدی نیز با اتصالات β(1 ⟶3) به دی ساکارید مجاور متصل شده است. خصلت آنیونیک اسید هیالورونیک باعث شده است این ترکیب به کاتیون های K^+ و Na^+ و Ca^+ متصل شود. خصوصیات ویژهٔ این ترکیب از جمله وجود بارهای منفی بر روی آن باعث جذب آب توسط این ترکیب می شود به نحوی که حجم ملکول در محلول در مقایسه با حالت خشک تا ۱۰۰۰ برابر افزایش می یابد. هیالورونیک اسید و سایر گلیکوزآمینوگلیکان ها توسط آنزیم هیالورونیداز، در بسیاری از بافت های حیوانی، باکتری ها و سم مار و حشرات دیده می شود.



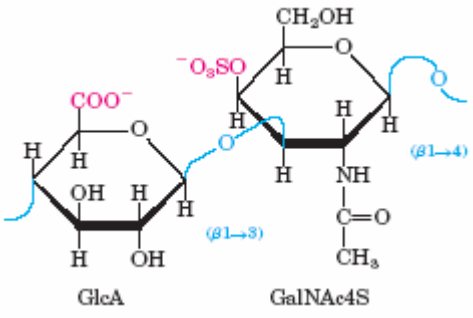
ساختمان هیالورونیک اسید

ب) هپارین: یک گلیکوزآمینوگلیکان سولفاته متشکل از واحدهای D-یدورونات ۲-سولفات و N-سولفو-D-گلوکزآمین ۶-سولفات است که با اتصالات $\alpha(1\rightarrow4)$ به یکدیگر متصل شده اند. هپارین بر خلاف سایر گلیکوزآمینوگلیکانها، جزء بافت پیوندی نیست بلکه در گرانول های درون سلولی Mast cellها که باعث مهار انعقاد خون می شوند، دیده می شود و رها شدن آن در هنگام جراحت مانع از حرکت لخته در جریان خون و بند آمدن جریان خون می شود. به همین دلیل هپارین به عنوان یک مادهٔ ضد انعقاد در کلینیک بسیار مورد استفاده قرار می گیرد.



ساختمان هپارین

ج) کندروئیتین-۴-سولفات (Chondroitin-4-sulfate): جزء مهمی از غضروف متشکل از N- استیل D- گالاکتوزآمین-۴-سولفات و گلوکورونیک اسید با اتصالات $\beta(1\rightarrow3)$ است.



ساختمان کندرویتین سولفات

لیپیدها (Lipids)

چربی ها دستهٔ دیگری از بیوملکولها هستند که در موجودات زنده از تنوع زیادی برخوردار هستند. این ترکیبات هم در تامین انرژی و هم در غشاهای سلولی نقش بسیار مهمی ایفا می نمایند. دستهٔ دیگری از این ترکیبات اعمال هورمونی در تنظیم فرآیندهای متابولیکی و زیستی را بر عهده دارند. چربی ها یا لیپیدها دسته ای از بیوملکول ها هستند که بر اساس خاصیت انحلال پذیری تعریف می گردند. این دسته از مواد ترکیباتی هستند که در حلال های آبی حل نشده بلکه در حلال های آلی مثل اتر، کلروفرم، بنزن و یا ا لکل گرم قابلیت انحلال دارند. انواع چربی ها به قرار زیر است:

۱. اسیدهای چرب(Fatty acids)
۲. چربی های خنثی یا (Acyl-Glyceroles)
۳. گلیسروفسفولیپیدها(Glycerophospholipids)
۴. اسفنگولیپیدها(Sphingolipides)
۵. Terpenes
۶. استروئیدها(Steroiedes)
۷. ایکوزانوئیدها(Eicosanoeides)

در زیر به مطالعه این دسته ها می پردازیم:

۱) اسیدهای چرب (Fatty acids):

اسیدهای چرب، اسیدهای کربوکسیلیکی هستند که تعداد کربن ها در آنها بین ۴ تا ۳۶ متغییر است. ولی غالباً در اسیدهای چربی که از لحاظ بیولوژییک حائز اهمیت هستند، تعداد کربن ها بین ۱۶ تا ۲۲ کربن است. این ترکیبات به ندرت به صورت آزاد در طبیعت یافت می شوند و غالباً از هیدرولیز چربی های دیگری مثل آسیل گلیسرول ها بدست می آیند. تعداد کربن ها در اسیدهای چرب که در سیستم های بیولوژیک دیده می شوند غالباً زوج بوده و برخی از آنها در ساختار شیمیایی خود واجد پیوند دوگانه هستند. بر همین اساس چرب به دو دستهٔ اسیدهای چرب اشباع (Saturate) و اسیدهای چرب غیراشباع (Unsaturate)، تقسیم بندی می شوند. اسیدهای چرب اشباع فاقد پیوند دوگانه بوده در حالی که در اسیدهای چرب غیر اشباع بین ۱ تا ۶ پیوند دوگانه در ساختمان ملکول دیده می شود. اسیدهای چرب علاوه بر گروه عامل کربوکسیل ممکن است واجد گروه ها و بنیانهای دیگری مثل هیدروکسیل، کتون ویا متیل نیز باشند. از معروفترین اسیدهای چرب اشباع می توان به اسید مریستیک ۱۴ کربنه، اسید پالمیتیک ۱۶ کربنه و اسید استئاریک ۱۸ کربنه اشاره کرد. مهمترین اسیدهای چرب غیراشباع شامل اسید اولئیک با ۱۸ کربن و یک پیوند دوگانه، اسید لینولئیک با ۱۸ کربن و دو پیوند دوگانه و اسید α-لینولنیک ۱۸ کربنه با سه پیوند دوگانه اشاره کرد. در جدول زیر مهمترین این ترکیبات مشاهده می شود.

Common Name	Number of C Atoms	
Acetic	2	Major end product of carbohydrate fermentation by rumen organisms[1]
Propionic	3	An end product of carbohydrate fermentation by rumen organisms[1]
Butyric	4	In certain fats in small amounts (especially butter). An end product of carbohydrate fermentation by rumen organisms[1]
Valeric	5	
Caproic	6	
Lauric	12	Spermaceti, cinnamon, palm kernel, coconut oils, laurels, butter
Myristic	14	Nutmeg, palm kernel, coconut oils, myrtles, butter
Palmitic	16	Common in all animal and plant fats
Stearic	18	

اسیدهای چرب اشباع

Number of C Atoms and Number and Position of Double Bonds	Family	Common Name	Systematic Name	Occurrence
Monoenoic acids (one double bond)				
16:1;9	ω7	Palmitoleic	*cis*-9-Hexadecenoic	In nearly all fats.
18:1;9	ω9	Oleic	*cis*-9-Octadecenoic	Possibly the most common fatty acid in natural fats.
18:1;9	ω9	Elaidic	*trans*-9-Octadecenoic	Hydrogenated and ruminant fats.
Dienoic acids (two double bonds)				
18:2;9,12	ω6	Linoleic	all-*cis*-9,12-Octadecadienoic	Corn, peanut, cottonseed, soybean, and many plant oils.
Trienoic acids (three double bonds)				
18:3;6,9,12	ω6	γ-Linolenic	all-*cis*-6,9,12-Octadecatrienoic	Some plants, eg, oil of evening primrose, borage oil; minor fatty acid in animals.
18:3;9,12,15	ω3	α-Linolenic	all-*cis*-9,12,15-Octadecatrienoic	Frequently found with linoleic acid but particularly in linseed oil.
Tetraenoic acids (four double bonds)				
20:4;5,8,11,14	ω6	Arachidonic	all-*cis*-5,8,11,14-Eicosatetraenoic	Found in animal fats and in peanut oil; important component of phospholipids in animals.
Pentaenoic acids (five double bonds)				
20:5;5,8,11,14,17	ω3	Timnodonic	all-*cis*-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic	Important component of fish oils, eg, cod liver, mackerel, menhaden, salmon oils.
Hexaenoic acids (six double bonds)				
22:6;4,7,10,13,16,19	ω3	Cervonic	all-*cis*-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic	Fish oils, phospholipids in brain.

برخی از اسیدهای چرب غیر اشباع

روش ساده ای که برای نامگذاری این ترکیبات وجود دارد، شامل روشی برای مشخص کردن تعداد کربن ها و تعداد پیوندهای دوگانه است که توسط علامت (:) از یکدیگر جدا می شوند. برای مثال اسید چرب اشباع پالمیتیک اسید۱۶ کربنه یه صورت 16:0 و اسید اولئیک ۱۸ کربنه و غیر اشباع بصورت 18C: 1 نمایش داده می شود. موقعیت هر پیوند دوگانه در زنجیرهٔ هیدروکربنی را می توان با علامت Δ بر بالای تعداد پیوندهای دوگانه نمایش داد. برای مثال در همان اسید اولئیک پیوند دوگانه بین کربن های شمارهٔ ۹ و شمارهٔ ۱۰ از سمت گروه

کربوکسیل قرار دارد به همین خاطر این اسید چرب به صورت :$C^{\Delta 9}$18C نمایش داده می شود. یا برای مثال اسید لینولئیک که واجد دو پیوند دوگانه بین کربن های ۹ و ۱۰ – ۱۲ و ۱۳ است به صورت :$2^{\Delta 9,12}$ 18C نمایش داده می شود.

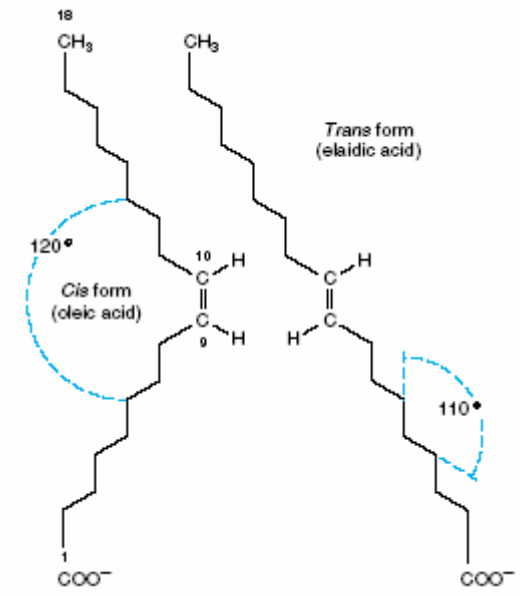
روش دیگری که برای مشخص کردن محل پیوند دوگانه در اسیدهای چرب وجود دارد، شناسایی و مشخص کردن محل پیوند از سمت گزوه متیل انتهایی است. این کربن که اصطلاحاً کربن ω نامیده می شود، معیاری برای مشخص کردن محل پیوندهای دوگانه در اسیدهای چرب است. برای مثال در اسید α- لینولنیک محل قرارگیری اولین پیوند دوگانه از سمت کربن ω، با احتساب خود این کربن، کربن شمارهٔ ۳ است. به همین دلیل به این نوع اسیدهای چرب، اسید چرب ω-3 گفته می شود.

اسیدهای چرب با پیوندهای دوگانهٔ متعدد غالباً در گیاهان عالی و حیواناتی که در مناطق سردسیر زندگی می کنند، فراوان دیده می شوند ولی در باکتری ها، اسید چرب با بیش از یک پیوند دوگانه مشاهده نگردیده است. اسیدهای چرب اشباع نشده ای که بیش از یک پیوند دوگانه داشته باشند اسیدهای چرب ضروری یا Essential نامیده می شوند، زیرا انسان و حیوانات قادر به سنتز این نوع اسید چرب در بدن خود نمی باشند.

در اسیدهای چرب غیر اشباع غالباً پیوند دوگانه از لحاظ کنفیگوراسیون فضایی به فرم Cis مشاهده می گردد. همچنین پیوندهای دوگانهٔ متعددی که در ساختار یک اسید چرب وجود داردغالباً به فرم غیرکونژوگه (-CH=CH-CH_2-CH=CH-)مشاهده می گردند و پیوندهای دوگانهٔ کونژوگه(-CH=CH-CH=CH-)غالباً در ساختارهای اسیدهای چرب مشاهده نمی شود. اسیدخای چزب ترانس غالباً توسط تخمیر در معدهٔ دام های شیری و یا دهیدروژناسیون روغن های نباتی و حیوانی سنتز می گردند.

خصوصیات فیزیکی اسیدهای چرب وابسته به طول زنجیرهٔ هیدروکربنی و درجهٔ غیر اشباعیت آنها دارد. حلالیت این ترکیبات نسبت عکس با طول زنجیرهٔ آنها دارد. برای مثال در لوریک۱۲ کربنه و غیر اشباع میزان حلالیت برابر با ۰/۰۶۳ میلی گرم در هر گرم آب است. این در مقایسه با گلوکز در آب که برابر ۱۱۰۰ میلی گرمگلوکز در هر گرم آب است، بسیار کمتر است اما در اسیدهای چرب طویل تر این مقدار بمرات کمتر است. علت این امر این است که در اسیدهای چرب عامل کربوکسیل به دلیل باردار بودن نسبی قادر به انحلال در فاز آبی است که در ملکول های بزرگتر این پدیده به دلیل مخفی شدن این گروه کربوکسیل در درون ملکول امکانپذیر نمی باشد.

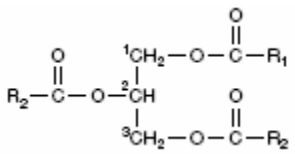
نقطهٔ ذوب نیز بسیار وابسته به طول زنجیره و درجهٔ اشباع بودن ملکول است. نقطهٔ ذوب با طول زنجیرهٔ کربنی رابطهٔ مستقیم و با تعداد پیوندهای دوگانه نسبت عکس دارد. برای مثال در دمای 25 C° اسید چرب ۱۲ تا ۲۴ کربنهٔ اشباع دارای حالت مومی شکل بوده، در حالی که در این دما اسیدهای چرب غیر اشباع، روغن هایی مایع هستند. این تفاوت در نقطهٔ ذوب به علت تفاوت در درجهٔ فشردگی ملکول های اسید چرب است. در ملکول های کاملاً اشباع، چرخش آزاد حول پیوند کربن- کربن باعث ایجاد قابلیت انعطاف زیاد در ملکول شده و در نتیجه پایدارترین حالت، حالت کاملاً باز ملکول خواهد بود که درآن دافعهٔ بین اتمی گروه ها حداقل میزان را داشته باشد. در نتیجه ملکول ها در ساختاری شبه کریستالی به یکدیگر نزدیک شده و از طریق تماس های واندروالس در کنار یکدیگر قرار می گیرند. در اسیدهای چرب غیر اشباع، پیوند دوگانه با کانفیگوراسیون Cis باعث ایجاد یک خمیدگی (Kink) در ساختار ملکول می گردد. اسیدهای چرب با ۱ یا ۲ یا تعداد بیشتری از این خمیدگی ها همانند اسیدهای چرب اشباع نمی توانند فشرده شده و چنین ساختاری را ایجاد نمایند.



اسیدهای چرب غالباً در سرم به فرم آزاد دیده نمی شوند. این ترکیبات در سرم با اتصال به پروتئین آلبومین جابجا می گردند.لازم به یادآوری است که در بیشتر مواردر اسیدهای چرب اشباع نشده که دارای پیوندهای مضاعف متعدد هستند، این پیوندها از کربن شمارهٔ ۹ آغاز گردیده و به سمت انتهای زنجیره ادامه می یابد.

۲) آسیل گلیسرول ها(Acyl-Glyceroles):

ساده ترین لیپیدهایی که از اسیدهای چرب سنتز می شوند، آسیل گلیسرول ها می باشند. این ترکیبات از استری شدن اسیدهای چرب با یک ا لکل موسوم به گلیسرول (گلیسیرین) سنتز می شود. اینها فراوانترین چربیها هستند که در طبیعت یافت می شوند و بخش عمدهٔ چربی های حیوانی و نباتی از این دسته هستند. اگر واکنش استری شدن بین یک زنجیرهٔ آسیل (اسید چرب) با ملکول گلیسرول صورت پذیرد به آن مونو آسیل گلیسرول یا مونوگلیسرید، اگر بین دو زنجیرهٔ آسیل با مولکول گلیسرول صورت پذیرد به آن دی آسیل گلیسرول یا دی گلیسرید، اگر بین سه زنجیرهٔ آسیل با مولکول گلیسرول صورت پذیرد به آن تری آسیل گلیسرول یا تری گلیسرید نامیده می شود. تری گلیسریدها فراوانترین و مهم ترین ترکیبات این دسته هستند.



ساختمان شیمیائی تری آسیل گلیسرول

اگر زنجیره های آسیل متصل شونده به گلیسرول مشابه باشندبه آن آسیل گلیسرول ساده و اگر نامتشابه باشند به آن آسیل گلیسرول مرکب گفته می شود. اسیدهای چرب متفاوتی می توانند با ۳ گروه هیدروکسیل گلیسرول استری شده و در نتیجه آسیل گلیسرول های مختلفی سنتز می شود. خصوصیات فیزیکی هر آسیل گلیسرول وابسته به نوع اسیدهای چرب موجود درآن است. به دلیل این که گروه هیدرکسیل قطبی در گلیسرول با اسید چرب به فرم استری در می آید بنابراین فاقد بار می باشد. به همین دلیل به این لیپیدها گاهی چربی های خنثی نیز گفته می شود.

در اغلب سلول های یوکاریوتی، تری آسیل گلیسرول ها به صورت قطعات چربی در سیتوزول سلول در زیر میکروسکوپ دهده می شوند. در مهره داران سلول های ویژه ای بنام آدیپوسیت ها (Adipocytes) یا همان سلول های چربی، تری آسیل گلیسرول ها را در خود ذخیره می نمایند. این ترکیبات به صورت قطرات روغنی در دانه های بسیاری از گیاهان ذخیره می گردد. می توان گفت آسیل گلیسرول ها

مهمترین فرم ذخیرهٔ چربی ها در بدن هستند. آدیپوسیت ها واجد آنزیم های لیپاز (Lipase) هستندکه باعث هیدرولیز آسیل گلیسرول های ذخیره ای شده و اسیدهای چرب را از آنها جدا می نماید. اسیدچرب آزاد شده با انتقال به بافت، انرژی مورد نیاز آن را تأمین می نماید.

دو مزیت اصلی در ذخیرهٔ انرژی بصورت آسیل گلیسرول در مقایسه با پلی ساکاریدهایی مثل نشاسته یا گلیکوژن وجود دارد:

۱. اول اینکه از لحاظ وضعیت اکسیداسیون و احیا، زنجیرهٔ هیدرکربنی اسیدهای چرب، احیاتر بوده و در نتیجه در مقادیر مساوی، از لحاظ اکسیداسیون، اسیدهای چرب مقدار انرژی بیشتری حدود دو برابر پلی ساکاریدها بدست می آید.

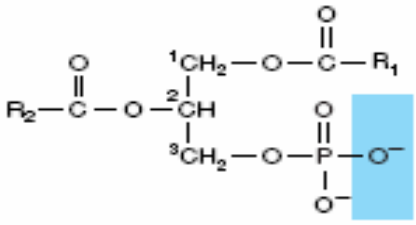
۲. دوم اینکه از آنجایی که چربی هایی مثل آسیل گلیسرول ها هیدروفوب هستند، بنابراین جهت ذخیره سازی آنها به وجود ملکول های آب در اطراف آنها جهت هیدراته کردن ملکول، نیازی نمی باشد.

چیزی که در مورد ترکیبی مثل گلیکوژن اتفاق می افتد و به ازای هر گرم گلیکوژن حدود دو گرم آب ذخیره می شود. در انسان بافت چربی در نواحی زیر پوست، حفرهٔ شکمی و غدد پستانی دیده می شود. در یک فرد چاق که حاوی ۱۵ تا ۲۰ کیلوگرم تری گلیسرید در این بافت است، انرژی مورد نیاز بدن وی را برای مدت چند ماه تأمین می کند. در صورتی که اگر قرار باشد همین مقدار به فرم گلیکوژن در بدن فرد ذخیره شود، حدود ۳۰ الی ۴۰ کیلوگرم آب نیز همراه آن ذخیره می شود.

در حیوانات، تری آسیل گلیسرول ذخیره شده در پوست نه تنها به عنوان تأمین کنندهٔ انرژی مورد استفاده قرار می گیرد بلکه به عنوان یک عایق حرارتی در برابر دماهای پایین عمل می نماید. Sealها، پنگوئن ها و سایر حیوانات خونگرم قطبی دارای لایه های ضخیمی از آسیل گلیسرول ها در زیر پوست هستند.

فسفوگلیسریدها (Phosphoglycerides)

فسفوگلیسریدها یا گلیسروفسفولیپیدها دستهٔ مهم دیگری از لیپیدها هستند که عمده نقش آنها شرکت این دسته از ترکیبات در ساختار غشاهای سلولی است. این دسته از اتصال دو ملکول اسید چرب به موقعیت های α و β گلیسرول و یک گروه قطبی که با یک اتصال فسفودی استر به کربن موقعیت αی گلیسرول متصل می شود، تشکیل می شوند. در مرحلهٔ اول ابتدا یک ملکول اسید سیتریک (H_3Po_4) با یکی از گروه های هیدرکسیل گلیسرین واکنش داده و بعد آن دو ملکول اسید چرب نیز با اتصال استری به موقعیت های بعدی گروه هیدروکسیل گلیسرول اتصال می یابند. جسم حاصل را اصطلاحاً اسید فسفاتیدیک یا فسفاتیدات می نامند. فسفاتیدات در اثر جوشاندن در اسید یا قلیا هیدرولیز شده و اسیدهای چرب و گلیسروفسفات آزاد می نماید

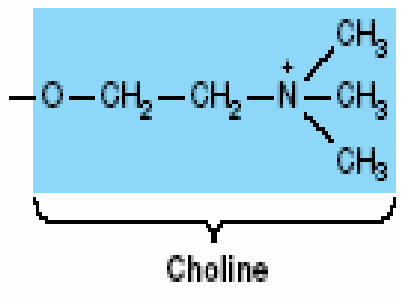


Phosphatidic acid

در ملکول فسفاتیدات غالباً دو ملکول اسید چرب در دو جهت مختلف بر روی کربن های α و β قرار می گیرند. هرگاه جهت قرار گیری زنجیرهٔ اسید چرب (آسیل) در سمت چپ کربن β قرار گرفته باشد(در صورتی که ناظر از روبرو به مولکول نگاه کند) این کنفیگوراسیون ملکول را Sn می نامند. این کربن (کربن β) یک کربن غیر متقارن محسوب می گردد. فسفولیپیدهای طبیعی غالباً از ترکیب Sn-گلیسرل ۳-فسفات تشکیل شده اند. مهمترین ترکیبات این دسته عبارتند از:

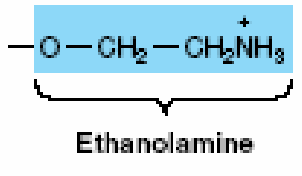
۱. فسفاتیدیل کولین (Phosphatidyl choline): نام دیگر این ترکیب لسیتین است(Lecithin) است. این ترکیب که در جایگاه ترکیب قطبی خود(X) واجد یک گروه کولین است. فراوانترین فسفولیپید موجود در نباتات و حیوانات عالی می باشد.

این ترکیب از ترکیبات عمدهٔ غشاهای سلولی است. لسیتین در تمام حلال های چربی به جز استن، محلول است و در اثر هیدرولیز با اسید رقیق تولید کولین و فسفاتیدات می نماید.

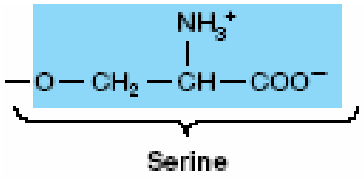


.

۲. فسفاتیدیل اتانول آمین (Phosphatidyl ethanolamine): نام دیگر این ترکیب سفالین (Cephalin) است. که بویژه در مغز و سلول های عصبی بیش از سایر بافت ها یافت می شود.



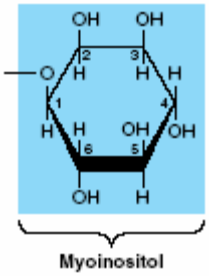
۳. فسفاتیدیل سرین (Phosphatidyl serine): این ترکیب به طور عمده در بافت های عصبی یافت می شود. هیدرولیز این مواد در مجاورت اسید، مشابه آنچه که برای لسیتین گفته شد، می باشد.



۴. فسفاتیدیل اینوزیتول (Phosphatidyl Inositol): ساختمان شیمیایی این ترکیب به صورت زیر است. (شکل) این ترکیب و مشتقات فسفریلهٔ آن در سطوح مختلف باعث تنظیم ساختمان و متابولیسم سلول می شود. فسفاتیدیل اینوزیتول ۴ و ۵ بیس فسفات در سطح پلاسمایی غشاء قرار دارد. این مولکول به عموان یک پیامبر ثانویه (Secondary messenger) عمل می نماید. پیامبرهای ثانویه ترکیباتی هستند که باعث انتقال سیگنال ها و پیام های انتقالی از خارج سلول به داخل و تنظیم فرآیندهای متابولیکی می شوند. برای مثال بسیاری از هورمون ها، خصوصاً هورمون های پپتیدی و پروتئینی بر روی سطح سلول دارای گیرنده هایی (Receptors) هستند که اتصال هورمون به این گیرنده ها بعث اتقال سیگنال های خاص به درون سلول و فعال شدن پیامبرهای ثانویه می شوند. یکی از این پیامبرهای ثانویه، ترکیب فسفاتیدیل اینوزیتول۴ و ۵ بیس فسفات است. (این مبحث در فصل بایوسیگنالینگ توضیح داده خواهد شد)

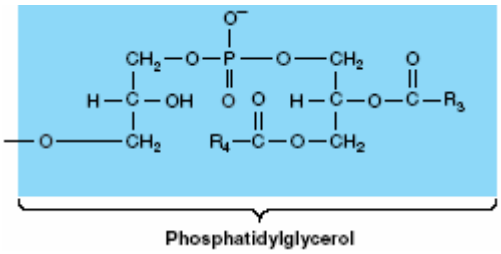
برای مثال هنگامی که هورمون وازوپرسین (Vasopressin) به گیرنده های غشای پلاسمایی بر روی سلول های پوششی لوله های جمع کننده کلیوی متصل می شود نوع خاصی از آنزیم فسفولیپاز C فعال می شود. فسفولیپاز C، باعث هیدرولیز پیوند بین گلیسرول و فسفات در فسفاتیدیل اینوزیتول ۴ و ۵ بیس فسقات گردیده و باعث آزاد شدن دو محصول اینوزیتول ۱،۴،۵ تری فسفات (IP_3) محلول در آب و دی اسیل گلیسرول متصل به غشاء می شود. IP_3 باعث تحریک آزاد سازی Ca^{2+} از شبکهٔ

آندوپلاسمی می شود. این آنزیم باعث انتقال یک گروه فسفات از ATP به پروتئین های خاص هدف شده و در نتیجهٔ این تغییر، فعالیت این پروتئین تغییر می نماید.

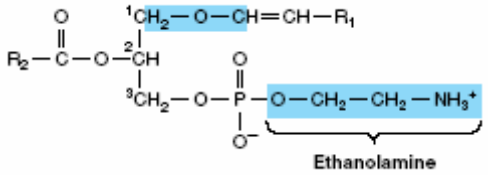


۵. دی فسفاتیدیل گلیسرول ها: دی فسفاتیدیل گلیسرول ها از یک مولکول گلیسرول و دو مولکول سید فسفاتیدیک تشکیل شده اند.

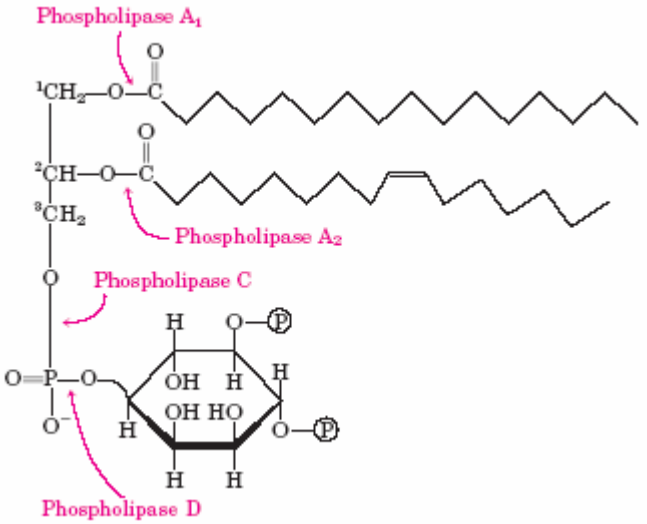
این گروه از فسفولیپیدها را می توان در غشاء درونی میتوکندری به میزان قابل توجهی مشاهده کرد. چون اولین بار از سلول های عضلهٔ قلب که حاوی مقدار زیادی میتوکندری است، استخراج شده اند آنها را کاردیولیپین نیز می نامند.



۶. پلاسما لوژن ها (Plasmlogens): ساختمان پلاسما لوژن ها متفاوت از سایر فسفولیپیدها است. در این دسته در موقعیت αی گلیسرول به جای اتصال یک اسید چرب با پیوند استری، یک الکل غیر اشباع به کربن αی گلیسرول متصل شده است. البته گاهی اوقات این الکل ها می توانند اشباع نیز باشند. بافت قلبی مهره داران غنی از این لیپیدها است. تقریباً نیمی از لیپیدهای قلبی از این نوع هستند. یکی از مهم ترین این ترکیبات، فاکتور فعال کنندهٔ پلاکتی (Platelet_ activating factor) است. این ترکیب از لکوسیت هایی مثل بازوفیل ها ترشح شده و بعث تحریک تجمع پلاکت ها و رها سازی سروتونین از پلاکتها می شود. این تحریک همچنین دارای اثرات مختلفی بر روی بافت کبد، عضلهٔ صاف، قلب، رحم و بافت ریه دارد و نقش مهمی در فرآیند التهاب و پاسخ التهابی دارد. باز ازت داری که در اغلب موارد در ساختمان پلاسمالوژن ها به کار می رود، اتانول آمین است.



در سلول های بدن آنزیم هایی به نام فسفولیپاز وجود دارد که در شرایط مناسب باعث هیدرولیز فسفوگلیسریدها به اجزاء تشکیل دهندهٔ خود می شوند. عمل این فسفولیپازها اختصاصی است. فسفولیپاز A اسید چرب را از کربن شمارهٔ ۱ گلیسرول جدا می کند و فسفولیپاز A_2 برداشت اسیدچرب را از کربن شمارهٔ ۲ به عهده دارد. برداشت یک مولکول اسید چرب از فسفوگلیسریدها تولید ماده ای بنام ایزوفسفوگلیسرید می نماید که از مواد واسطه ای یا بینابینی متابولیسم فسفوگلیسریدها محسوب می شود. فسفولیپاز B مخلوطی از فسفولیپاز A_1 و A_2 است. فسفولیپاز C پیموند استری بین کربن شمارهٔ ۳ی گلیسرول و اسید استیک را می شکند و فسفولیپاز D هیدرولیز پیوند بین باز ازت دار و اسید فسفریک را به عهده دارد.



اسفنگولیپیدها (Sphingo lipids)

دستهٔ دیگری از لیپیدهای غشایی هستند که واجد یک سر قطبی و دو دُم غیر قطبی هستند که بر خلاف فسفولیپیدها فاقد گلیسرول در ساختار خود هستند. اسفنگولیپیدها از یک الکل آمینه موسوم به اسفنگوزین (۴- اسفنگنین) تشکیل شده اند.

ساختمان شیمیایی اسفنگولیپیدها از ۳ قسمت تشکیل شده است:

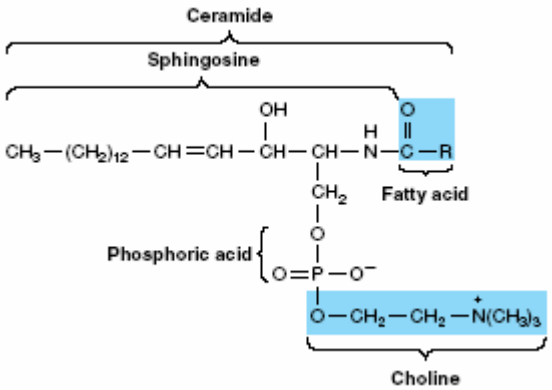
۱) یک مولکول اسید چرب

۲) یک مولکول اسفنگوزین

۳) یک گروه قطبی

اسفنگولیپیدها به سه گروه تقسیم می شوند:

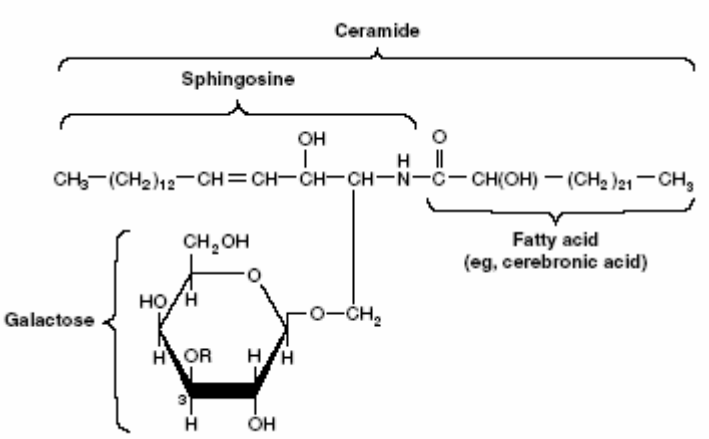
A. اسفنگومیلین ها (Sphingomyelins): مادهٔ اولیه برای سنتز اسفنگولیپیدها، سرامید (Ceramide) است. سرامیداز ترکیب گروه آمین اسفنگوزینبا یک مولکول اسید چرب (۱۸ تا ۲۴ کربنه) با اتصال آمیدی به یکدیگر تشکیل می شود. اسفنگومیلین، حاصل ترکیب مولکول سرامید با گروه قطبی فسفوکولین است. این ترکیب از فراوان ترین اسفنگولیپیدهای سلول های حیوانی و گیاهی است. در اسفنگومیلین موجود در مغز به جای اسفنگوزین، گاهی دارای ترکیبی موسوم به دهیدرو اسفنگوزین می باشد.



B. گلیکواسفنگولیپیدهای خنثی (سربروزیدها Cerebrosides): در این گروه به جای گروه قطبی فسفوکولین یک مولمول مونوساکارید عمدتاً گلوکز یا گالاکتوز وجود دارد. در این ترکیبات مولکول قند با یک پیوند β- گلیکوزیدی به گروه هیدروکسیل سرامید متصل می شود. سربروزیدهایی که در بافت مغز و سلسلهٔ اعصاب یافت می شوند غالباً محتوی گالاکتوز هستند و به آنها گالاکتوزید (Galactoside) یا گالاکتوسربروزید می گویند. گلوکوزیدها یا گلوکزسربروزیدها به جای گالاکتوز واجد گلوکز هستند.در بعضی گالاکتوسربروزیدها خصوصاً در بافت های عصبی کربن شمارهٔ ۳ی گالاکتوز با یک

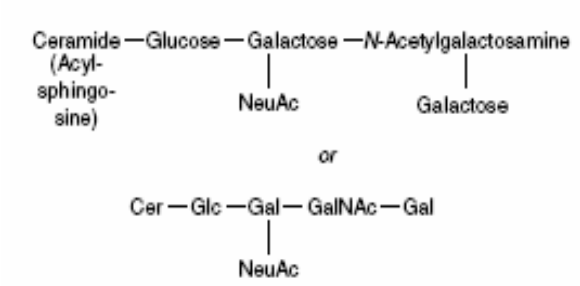
مولکول اسید سولفوریک استریفیه شده که به این ترکیبات سولفاتید می گویند.

اسید چربی که غالباً در سربروزیدها دیده می شود اسیدهای چرب حاوی ۲۲ تا ۲۶ اتم کربن هستند که از مهمترین آنها می توان به اسید سربرونیک اشاره کرد. هیدرولیز قلیایی سربروزیدها باعث جدا شدن اسیدهای چرب آنها از یکدیگر شده و به ترکیب حاصل اصطلاحاً سایکوزین (Psychosine) می گویند.



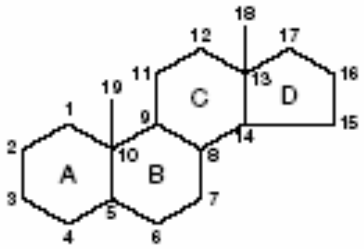
C. گلیکواسفنگولیپیدهای اسیدی یا گانگلیوزیدها (Gangliosides): پیچیده ترین دستهٔ اسفنگولیپیدها هستند. در این دسته به جای یک مولکول قند ساده، یک زنیرهٔ اولیگوساکاریدی که حداقل حاوی یک مولکول اسید سیالیک (N- استیل نورآمینیک اسید) تشکیل شده است. سیالیک اسید باعث ایجاد بار منفی بر رویاین ترکیبات می شود. انواع مختلفی از گانگلیوزیدها تا به امروز شناسایی شده است. آنهایی که واجد یک مولکول اسید سیالیک باشند با GM، دو مولکول اسید سیالیکGD و سه مولکول اسید سیالیک را با GT نمایش می دهند.

اسفنگولیپیدها در لیزوزوم ها توسط آنزیم های هیدرولیز کننده (هیدرولازها)تجزیه می گردند. این پروسه در یک محیط آبی –آلی و با حضور فاکتورهای کمکی مثل پروتئین فعال کنندهٔ اسفنگولیپید (Sphinolipid Activator Protein) صورت می پذیرد. این پروتئین باعث دسترسی بهتر آنزیم به بخش قندی اسفنگولیپید و سهولت هیدرولیز آن میگردد. برای مثال در اسفنگولیپید GM_2 کمپلکس $GM_2 - \text{activator} - GM_2$ می تواند به راحتی به آنزیم آنیداز A متصل شده و با هیدرولیز N- استیل گالاکتوزآمین از آن، تجزیهٔ این ترکیب را انجام دهد. عدم حضور ارثی آنزیم هیدرولاز و یا SAPها باعث ایجاد طیفی از بیماری های ارثی موسوم به بیماری های ذخیره ای اسفنگولیپید (Sphongolipid Storage Disease) می گردد. بیماری تی – ساکس (Tay-sachs) یک بیماری ارثی با الگوی اتوزوم مغلوب است که ناشی از نقص در فعالیت آنزیم هگزوز آمینیداز A رخ می دهد. این نقص باعث تجمع گانگلوزید GM_2 در سیستم عصبی می گردد. اگرچه نوزادان متولد شده با بیماری Tay-sachs در ابتدا طبیعی به نظر می رسند، ولی در سن یک سالگی هنگامی که مقدار GM_2 تجمع یافته افزایش می یابد و با عملکرد دستگاه عصبی تداخل می نماید، دچار ضعف، عقب ماندگی ذهنی و کوری شده و در نهایت منجر به مرگ نوزاد بین ۱ تا ۳ سالگی می شود. انواع دیگر این بیماری که در اثر تجمع گانگلیوزیدهای دیگر ایجاد می شود در جدول زیر نشان داده شده است.



استروئیدها (Steroids)

گروه بزرگی از چربی ها که بسیار شبیه به دستهٔ کوچک دیگری از لیپیدها موسوم به ترپن ها (Terpenes) هستند. ترپن ها ترکیباتی از ۱ و ۳ دی متیل بوتا دی ان هستند. تنوع اعمال بیولوژیک در این دسته بسیار زیاد می باشد. ترکیبات این دسته مشتقاتی از ترکیبی موسوم به سیکلوپنتاپر هیدروفنانترن (Cyclopentanoperhydro phenentree) هستند که خود از دو بخش به نام های فنانترن و سیکلوپنتان تشکیل شده اند. فنانترن خود از سه حلقهٔ سیکلوهگزان Aو B و C که در یک سطح قرار نگرفته اند، تشکیل شده است.



برخی از خواص کلی استروئیدها را ممکن است با توجه به خصوصیات ماده ای از این گروه به نام کلستانول توجیه نمود. ساختمان این ماده در زیر نشان داده شده است:

به این نکته توجه نمائید که در ساختمان این مولکول، تمام حلقه ها اشباع می باشد.

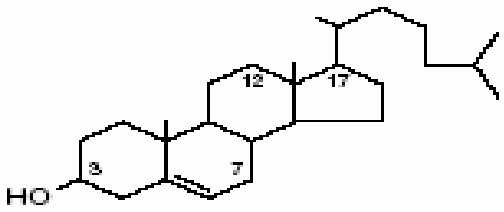
خواص کلی استروئیدها:

A. یک گروه استخلافی حاوی اکسیژن به کربن شمارهٔ ۳ متصل شده است که از ویژگی های تمام استروئیدهای طبیعی است.

B. دو گروه متیل (-CH_3) که با شماره های ۱۸ و ۱۹ مشخص شده اند، روی کربن های ۱۰ و ۱۳ قرار دارند به استثنای استروژن ها که حلقهٔ A در آنها آروماتیک است و بدین ترتیب کربن شمارهٔ ۱۰ نمی تواند حامل گروه متیل باشد.

C. در بعضی موارد یک زنجیرهٔ خطی چند کربنی به کربن شمارهٔ ۱۷ پیوند شده است. این زنجیرهٔ کربن وسیلهٔ مناسبی را برای تقسیم بندی استروئیدها محسوب می گردد. در گروه استرول ها این زنجیره دارای ۸ و ۹ و یا ۱۰ کربن است و بدین ترتیب تعداد کل کربن های این گروه ۲۷ ، ۲۸ و یا ۲۹ عدد هستند. در اسیدهای صفراوی (Bile acids) این زنجیره دارای ۵ کربن بوده و بنابراین تعداد کل کربن این دست ۲۴ و در استروئیدهای مترشحه از کورتکس آدرنال و پروژسترون این تعداد ۲ بوده و بنابراین تعداد کل کربن های این ترکیبات ۲۱ عدد و در استروژن ها و آندروژن ها فاقد رشتهٔ کناری و بنابراین تعداد اتم های کربن ۱۸ و ۱۹ عدد است.

الف) کلسترول و مشتقات آن (استرول ها): استروئیدهای که در شاخهٔ جانبی ۸ تا ۱۰ اتم کربن داشته و دارای یک گروه هیدروکسیل روی کربن شمارهٔ ۳ باشند، در گروه استرولها طبقه بندی می شوند. کلسترول فراوانترین نمونهٔ این گروه بوده که در بافت های حیوانی مشاهده می شود. علاوه بر این خصوصیات این ترکیب واجد یک پیوند دوگانه بین کربن های ۵ و ۶ در حلقهٔ B است.



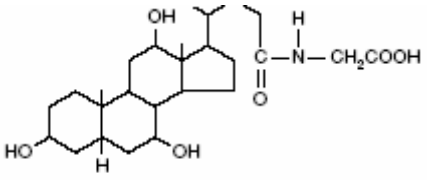
Cholesterol

این ترکیب در تمام چربی های حیوانی، خون و صفرا وجود دارد. $^{2}/_{3}$ کلسترول سرم به صورت استریفیه با یک اسید چرب اشباع نشده و بقیهٔ آن بصورت آزاد دیده می شود. ماده ای بنام ۷- دهیدروکلسترول از اکسیداسیون کلسترول طبق واکنش زیر بدست می آید که دارای یک پیوند مضاعف دیگر بین کربن های ۷ و ۸ است. این استرول ها در لایهٔ چربی زیر پوست نیز دیده می شوند. (شکل)

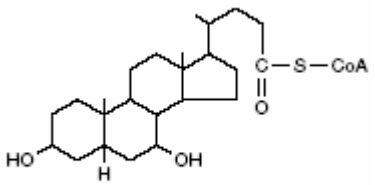
در مخمر ارگوسترول (Ergosterol) مشاهده می شود و ترکیب مشابه آن در گیاهان عالی، ترکیب سیتوسترول است که در زیر مشاهده می شوند.

به علت وجود پیوندهای مضاعف در حلقهٔ یB این دو ترکیب، اگر این مواد تحت تأ ثیر اشعهٔ ماوراء بنفش قرار گیرند، حلقهٔ B باز شده و محصولاتی با ویژگی های ویتامین D تولید می شود. از ۷-دهیدروکلسترول، ویتامین D_3 یا D حیوانی و از ارگوسترول ویتامین D_2 یا D گیاهی تولید می شود.

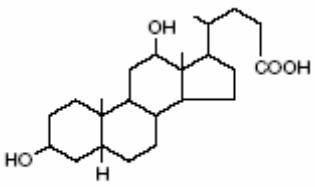
ب) اسیدهای صفراوی: این گروه از استروئیدها دارای ۲۴ کربن هستندو شاخهٔ جانبی آنها از ۵ اتم کربن تشکیل شده است که آخرین گروه آن، گروه کربوکسیل است. در صفرای انسان ۴ نوع اسید صفراوی شامل ۲ نوع اسید صفراوی اولیه و ۲ نوع اسید صفراوی ثانویه دیده می شود. اسیدهای صفراوی اولیه شامل اسید کولیک واسید دزوکسی کولیک به طور مستقیم در صفرا از کلسترول سنتز می شوند. این ترکیبات با ورود به روده در اثر عمل باکتری های روده به اسیدهای صفراوی ثانویه تبدیل می شوند. بدین ترتیب از اسید کولیک، اسید کنو دزوکسی کولیک و از اسید دزوکسی کولیک، اسید لیتوکولیک سنتز می شود. اسیدهای صفراوی عمدتاً به صورت کونژوگه با اسیدهای آمینه ای مثل گلیسین و یا تورین دیده می شوند.



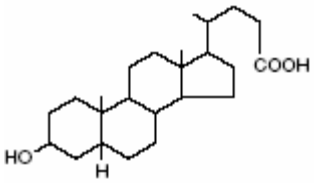
Glycocholic acid
(primary bile acid)



Chenodeoxycholyl-CoA



Deoxycholic acid
(secondary bile acid)



Lithocholic acid
(secondary bile acid)

این ترکیبات در pH صفرا به صورت نمک های سدیم و پتاسیم در می آیند. بهمین خاطر گاهی به آنها نمک های صفراوی نیز می گویند. این ترکیبات از دترجنت های قوی محسوب می شوند که در هضم و جذب چربی ها نقش مهمی به عهده دارند.

ایکوزانوئیدها (Eicosanoides)

پروستاگلاندین ها (Prostaglandins) اولین بار در دههٔ ۳۰ توسط Von Euler از ترشحات غدهٔ پروستات سازی گردید. این ترکیبات قادر به تحریک انقباضات جدارهٔ رحم و کاهش فشار خون بود. Von Euler تصور می کرد که این ترکیبات در غدهٔ پروستات

سنتز می شوند و به همین خاطر نام پروستاگلاندین را برای این ترکیبات نهاد. در اواسط دهۀ ۵۰ ترکیبات کریستالی از مایعات بیولوژیک استخراج شد که تحت عنوان PGE (محلول در اتر) و PGF (محلول درFosfat) نامگذاری گردید.

تقریباً تمام سلول های پستانداران به جز گلبول های قرمز، پروستاگلاندین ها و ترکیبات وابسته به آنها را سنتز می نمایند. این ترکیبات شامل پروستاسایکلین ها، ترومبوکسان ها، لکوترین ها و لیپوکسین ها هستند که در مجموع به آنها ایکوزانوئید می گویند چراکه همگی واجد ۲۰ اتم کربن هستند. ایکوزانوئیدها همانند هورمون ها دارای اثرات فیزیولوژیک در غلظت های کم هستند. از جمله اعمال فیزیولوژیک این دسته می توان به موراد زیر اشاره کرد:

۱) شرکت در ایجاد پاسخ های التهابی، خصوصاً التحاب های مفاصل (آرتریت روماتوئید)،پوست (پسوریازیس) والتهاب چشم
۲) تحریک فرآیند انعقاد خون
۳) تنظیم فشار خون
۴) تولید درد و تب
۵) کنترل عملکردهای تولید مثلی مثل القاء تخمک گذاری
۶) تنظیم سیکل خواب و بیداری

ایکوزانوئیدها از این جهت که به گیرندهای متصل به G- پروتئین ها متصل می شوند نیز مشابه هورمون ها عمل می نمایند و بسیاری از اعمال بیولوژیک انها از طریق القاء سنتز cAMP صورت می گیرد. ولی بر خلاف هورمون ها این ترکیبات در خون وارد نشده و تنها بر روی سلول های سنتز کننده و یا سلول های اطراف آن عمل می نمایند. به همین دلیل بر خلاف هورمون های اندوکرین (Endocrine) به آنها هورمون های (Paracrine) اطلاق می گردد.

الف) ساختمان: پروستاگلاندین ها مشتقات یک اسید چرب ۲۰ کربنه فرضی موسوم به پروستانوئیک اسید(Prostanoic acid) هستند که در آن اتم های کربن ۸ تا ۱۲ تولید یک ساختمان حلقوی نموده اند. پروستاگلاندین های A تا I تفاوتشان در نوع استخلافات موجود بر روی این حلقۀ پنج ضلعی لست. برای مثال در PGA یک گروه کتون بر روی کربن ۹ و یک گروه هیدروکسیل بر روی کربن ۱۱ قرار دارد.

گاهی اوقات در پروستگلاندین های سری مشخصی مثل E انواع مختلفی مثل PGE_1 و PGE_2 دیده می شوند. اندیس ۱ یا ۲ در این پروستاگلاندین ها نشان دهندۀ تعداد پیوند های دوگانۀ موجود بر روی زنجیره های R_1 و R_2 در این مولکول ها است.

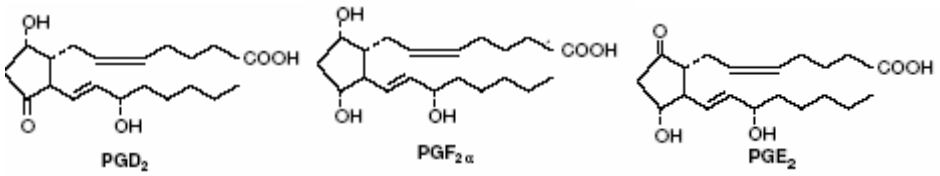
در انسان پیش ساز عمدۀ پروستاگلاندین ها، اسید آرارشیودنیک ۲۰ کربنه با فرمول $4^{\Delta\,5,8,11,14}20\ C$: است. این اسید چرب غیر اشباع یک اسید چرب ω-6 محسوب می گردد چراکه آخرین بند دوگانۀ آن ۶ کربن با کربن متیل انتهایی (ω) فاصله دارد. آراشیدونیک اسید از اسید چرب ضروری دیگری مثل اسید لینولئیک که خود یک اسید چرب امگا - ۶ محسوب می گردد، سنتز می گردد. آراشیدونیک اسید در غشاء سلولی با یک واکنش استری با گلیسرول به صورت فسفولیپیدهای حاوی اینوزیتول (فسفاتیدیل اینوزیتول) ذخیره می گردد. تولید متابولیت های حاصل از آراشیدونیک اسیدبا رها سازی این ترکیب از فسفولیپیدهای غشایی توسط آنزیم های فسفولیپاز صورت می گیرد. این عمل توسط فسفولیپاز A_2 باعث جدا شدن اسیدآراشیدونیک از موقعیت شمارۀ ۲ی گلیسرول در فسفولیپیدها می گردد. سنتز تمام ترکیبات ایکوزانوئیدی در دو مسیر متابولیکی مهم و اصلی موسوم به مسیرهای سیکلواکسیژناز (Cyclooxygenase) و لیپیواکسیژناز (Lipooxygenase) صورت می گیرد. در مسیر اول ترکیبات پروستاگلاندین از اسید آراشیدونیک سنتز شده و در مسیر دوم ترومبوکسان ها و لکوترین ها سنتز می گردند. (مراحل سنتز درمباحث متابولیسم اشاره خواهد شد).

در مسیر سیکلو اکسیژناز یکی از آنزیم های موجود آنزیمی است به نام پروستاگلاندین – H سنتتاز که اختصاراً به آن سیکلواکسیژناز (COX) نیز گفته می شود. این آنزیم هدف دارویی بوده و بسیاری از داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی (Non-steroids anti inflammatory drugs) علیه این آنزیم عمل می نمایند. از جمله مهمترین این داروها می توان به آسپرین، ایندومتاسین، ایبوپروفن، ناپروکس اشاره نمود. بنابراین با مهار سنتز پروستاگلاندین ها واکنش های التهابی و درد که پروستاگلاندین ها از واسطه های اصلی آنها به

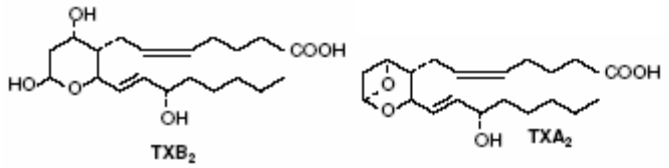
شنار می روند، مهار می گردد. ولی مشاهده گردید افرادی که برای مدت طولانی مبادرت به مصرف این داروها نمایند دچار مشکلات گوارشی از جمله زخم های گوارشی مثل زخم معده(Peptic ulcer) می گردند.

این محل به دلیل نقش تنظیمی پروستاگلاندین ها در کنترل ترشح اسید معده است که در اثر مصرف این داروها و کاهش سنتز پروستاگلاندین ها این نقش تنظیمی از بین رفته و فرد به دلیل ترشح زیاد اسید معده دچار زخم های گوارشی می گردد. این نقیصه با کشف ایزوفرم دیگری از این آنزیم موسوم به (COX-2) که تنها در سلول های التحابی دیده می شود بر طرف گردید. در واکنش ها ی التحابی این ایزوفرم در سلول های التحابی بیان شده و باعث افزایش سنتز پروستاگلاندین ها می شود . به همین دلیل تولید داروهای مهار کنندۀ این آنزیم مثل ROFECOXI(B ویا Celecoxib با مهار سنتز پروستاگلاندین ها مانع از ایجاد عوارض جانبی داروهای NSAID میگردد.

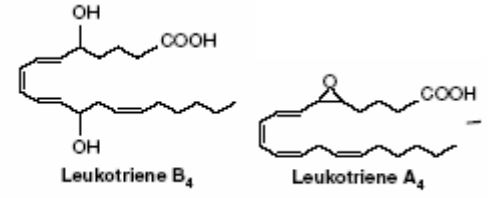
استامینوفن که نوع دیگری از داروهای ضد التحابی غیر استروئیدی است با مکانیسم دیگری باعث مهار التحاب و درد می شود. این دارو که مکانیسم آن بسیار مرموز و ناشناخته بود، با کشف ایزوفرم سوم آنزیم COX موسوم به COX-3 توسط دانیل سیموتر مشخص شد که این ترکیب باعث مهار این ایزوفرم میشود. ترومبوکسان ها که عمدتاً در پلاکتها سنتز می شوند، نقش عمده ای در فرآیندهای انقباض عروق و تجمع پلاکتها به عهده دارند. سلول های اندوتلیال عروق، حاوی آنزیم پروستاسایکلین سنتتاز هستند که موجب سنتز PGE_2 میگردد که یک گشاد کنندۀ عروق و فاکتور ضد تجمع پلاکتی است.مواد دارای واکنش آهستۀ آنافیلاکسی شامل مخلوطی از لکوترین ها C_4، D_4 و E_4 هستند. قدرت این مخلوط لکوترین ها در انقباض عضلات مجاری هوایی برونشی صد تا هزار برابر بیشتر از قدرت هیستامین است. این لکوترین ها باعث نفوذپذیری عروق و جذب و فعال شدن لکوسیت ها شده و به نظر می رسد که از عوامل تنظیم کنندۀ مهم در بسیاری از بیماری های التحابی یا واکنش های افزایش حساسیت فوری از قبیل آسم می باشند.



ساختمان شیمیائی چند نوع پروستاگلاندین



ساختمان شیمیائی دو نوع ترومبوکسان



ساختمان شیمیائی دو نوع لکوترین

پروتئین ها

متنوع ترین بیومولکول های زیستی هستند. این ترکیبات هم دارای نقش ساختمانی و هم دارای نقش عملکردی می باشند. پروتئین ها یکی از بخش های عمدهٔ غشاهای سلولی را تشکیل می دهند همچنین این ترکیبات بصورت آنزیم در کاتالیز واکنش های بیوشیمی، بصورت آنتی بادی در دفاع اختصاصی بدن برابر عوامل بیگانه، بصورت هورمون در تنظیم فرآیند متابولیکی و بصورت پروتئین پلاسمایی مثل آلبومین در تنظیم فشار اسمزی پلاسما نقش دارند. این پلیمرها از واحدهای مونومری موسوم به اسیدهای آمینه تشکیل شده اند.این مونومرهای ساختمانی که در واقع آجرهای سازنده پروتئینها محسوب میگردند،همان طور که از نامشان پیداست واجد ۲ گروه عاملی آمینی و کربوکسیل به طور همزمان برروی خودهستند

اسیدهای آمینه(Aminoacids):

تعداد اسدهای آمنه شرکت کننده در ساختار پروتئینها ۲۰ نوع است.تا به امروز ۳۰۰ اسید آمینه مختلف شناسائی شده است که از این تعدادتنها ۲۰ اسید آمینه در ساختار پروتئینها به طور مستقیم وارد میشوندو به آنها اسیدهای آمینه استاندارد گفته میشود.این اسدهای آمینه هرکدام برروی مولکول mRNA حداقل واجدیک کدون اختصاصی هستند.علاوه بر این آمینواسیدها در ساختار پروتئینها اسیدهای امینه دیگری نیز یافت میشود که به آنها اسیدهای آمینه غیر استاندارد گفته میشود.این اسیدهای آمینه غیر استاندارد پس از ساخت طس فرایندهایی موسوم به تغییرات پس ترجمه ایی(Post Translational Modification) از اسیدهای آمینه استاندارد ایجاد میگردند.این تغییرات اغلب آنزیمی میباشد.اسیدهای آمینه موجود در یاختار پروتئینها از نوع آلفا آمینواسید هستندکه در ان گروههای کربوکسیل ،آمینی ،اتم هیدروژن ویک زنجیره جانبی به یک کربن موسوم به کربن آلفا متصل هستند.ساختمان تیپیک یک اسید آمینه به صورت زیر است:

هر اسید آمینه دارای یک کربن نامتقارن است و بنابراین به دو فرم فعال نوری در طبیعت دیده می شود. اگر گروه آمینی متصل به C_α (کربنی در سمت چپ آن قرار داشته باشد اسیدآمینهٔ سری L و اگر در سمت راست باشدسری D نامیده می شود.بطور کلی اسیدهای آمینهٔ موجود درساختار پروتئین ها، سری L است.اسیدهای آمینه سری D مانندD آلانین در ساختار برخی پپتیدهای باکتریایی مشاهده می شود. تقسیم بندی اسیدهای آمینه با نوجه به خصوصیات زنجیرهٔ جانبی آنها صورت می گیرد و به شرح زیر است:

۱) اسیدهای آمینه با زنجیرهٔ جانبی غیر قطبی آلیفاتیک و آروماتیک: این دسته شامل اسیدهای آمینهٔ گلایسین، آلانین، والین، لوسین، ایزولوسین، متیونین، پرولین، فنیل آلانین و تریپتوفان. اسیدهای آمینهٔ این دسته همگی آبگریز می باشند. در این دسته اسید آمینهٔ گلایسین کوچکترین است که

زنجیرهٔ جانبی آن فقط از یک هیدروژن تشکیل شده و فاقد فعالیت نوری است. و اسید آمینهٔ ایزولوسین دارای دو کربن نامتقارن می باشد. اسیدهای آمینهٔ این گروه در فرآیند تاخوردگی پروتئین و حفظ ساختار سه بعدی آنها دارای اهمیت می باشد.

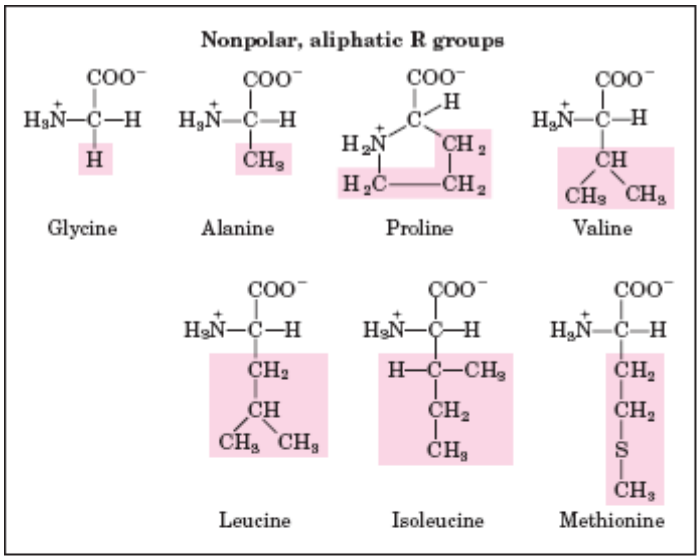
اسیدهای آمینه ای که دارای گروه آروماتیک مثل تریپتوفان و فنیل آلانین در طول موج 280_{nm} دارای max جذب UV می باشند بنابراین از این خاصیت برای تعیین غلظت پروتئین ها استفاده می شود. در این دسته اسید آمینهٔ پرولین قرار داردکه از ویژگی های آن این است که علاوه براتصال به C_α ب عامل آمینی نیز متصل شده است بنابراین یک ترکیب ایمینواسید به حساب می آید. .

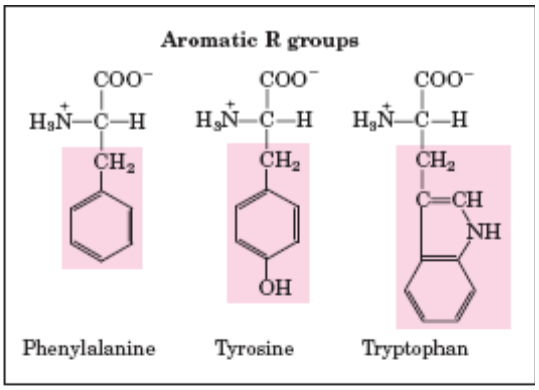
۲) اسیدهای آمینهٔ قطبی بدون بار: این گروه شامل اسیدهای آمینهٔ سرین، ترئونین، آسپارژین، گلونامات، تیروزین و سیستئین است.

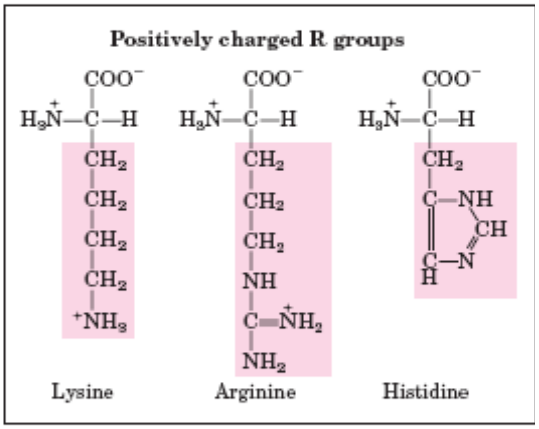
در آمینهٔ این گروه، دو اسید آمینهٔ سرین و ترئونین دارای گروه هیدروکسیل و اسیدآمینهٔ سیستئین دارای گروه تیول است. اسید آمینهٔ ترئونین در این دسته همانند ایزولوسین دارای دو کربن نامتقارن است. در این گروه اسیدهای امینهٔ سیستئین نقش بسیار مهمی در پایداری ساختمان پروتئین ایفا می کند. این اسید آمینه با اکسید شدن و اتصال یک اسیدآمینهٔ سیستئین دیگر باعث اتصال پل های دی سولفیدی در ساختار پروتئین می گردد. این پیوند های کووالان نقش بسیار مهمی در ساختار پروتئین ها ایفا می کنند. .

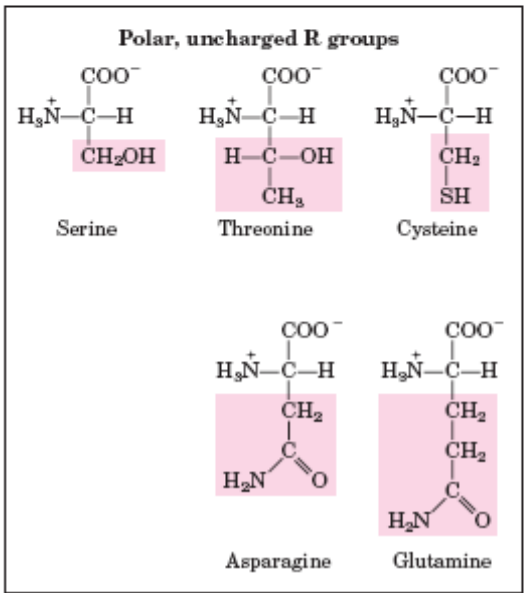
۳) اسیدهای امینه با زنجبرهٔ باردار و قطبی: این گروه شامل اسدهای آمینهٔ لیزین، آرژنین، هیستیدین، اسید آسپارتیک و اسید گلوتامیک می باشد. این اسیدهای آمینه شامل اسیدهای آمینه ای است که دارای زنجیرهٔ جانبی باردار هستند به این معنی که در pH فیزیولوژیک (۷,۴) زنجیرهٔ جانبی این اسیدهای امینه تثریباً به طور ۱۰۰٪ بصورت یونیزه شده دیده می شود. دو اسید آمینهٔ این گروه شامل لیزین و آرژنین دارای خصلت بازی و دو اسید آمینهٔ اسید آسپارتیک و اسید گلوتامیک خصلت اسیدی دارند . آرژنین در این گروه حاوی یک گروه گوانیدین است. و اسید آمینهٔ که دارای ایمیدازول است در pH فیزیولوژیک هم به نقش اسید و هم بصورت باز عمل می کند . و در جایگاه فعال آنزیم ها نقش مهمی دارد.

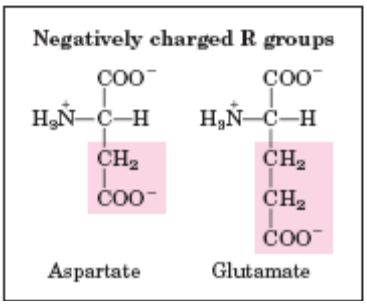
درشکل زیر ساختمان اسیدهای امینه استاندارد مشخص شده است:











تیتراسیون اسیدهای آمینه

اسیدهای آمینه دارای حداقل دو گروه یونیزه شونده هستند که α-کربوکسیل و α-آمین می باشند. این گروه ها با توجه به pH محیط حالت های مختلف یونیزاسیون را به خود می گیرند. در pH کاملاً اسیدی (مثلاً زیر۲) گروه های هیدروکسیل و آمین به فرم کاملاً پروتونه مشاهده می شوند در این وضعیت بار کلی محلول + می باشد. با اضافه شد نpH محیط، گروه های کربوکسیل و آمینی شروع به یونیزه شدن میکنند ولی از ۀنجایی که قدرت اسیدی گروه های کربوکسیل به مراتب بیشتر از گروه های آمینی است، در ابتدا گروه H خود را از دست می دهند. در نقطه ای از pH نیمی از گروه های کربوکسیلدپروتونه شده اند. در این نقطه غلظت فرم پروتونه و دپروتونه برای گروه کربوکسیل با یکدیگر برابر است و طبق معادلۀ هاندرسون و هاسل باخ در این نقطه pH برابر PK_a است. با اضافه شدن pH محلول، سایر گروه های کربوکسیل شروع به از دست دادن اتم هیدروژن می کنند در نقطه ای از pH تمامی گروه های کربوکسیل دپروتونه می شوند در این حالت جمع جبری بارهای الکتریکی محلول برابر صفر است. به این pH، pH یا نقطۀ ایزوالکتریک گفته می شود و با P_I نشان می دهند. با اضافه شدن ph، گروه های آمینی هم هیدروژن از دست می

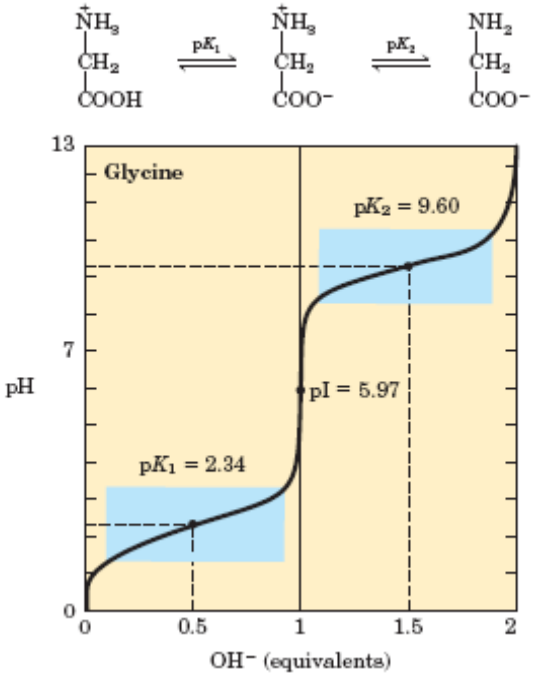
دهند و در نقطهٔ PK_2 نیمی از گروه های آمینی دپروتونه هستند و در حدود ۱ تا ۱,۵ واحد pH بالاتر، تقریباً تمامی گروه های آمینه دپروتونه شده مشاهده می کردند که اسیدهای آمینه ترکیباتی هستند که در محیط اسیدی خصلت بازی و در محیط بازی خصلت اسیدی نشان می دهند. به چنین ترکیباتی آمفوتر یا آمفولیک می گویند. نقطهٔ ایزوالکتریک برای اسید آمینه ای که تنها یک گروه قابل یونیزاسیون دارد، از رابطهٔ زیر محاسبه می گردد:

$$\frac{PK_1 + PK_2}{2} = P_I$$

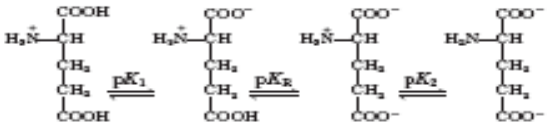
در بعضی اسید های آمینه علاوه بر α-آمین و α-کربوکسیل گروه های یونیزل شوندهٔ دیگری نیز مشاهده می شوند . این گروه ها یا مثل گروه کربوکسیل آسپارتات و گلوتامات دارای خصلت اسیدی اند و یا مثل گروه آمینی لیزین و آرژنین دارای خصلت بازی می باشند. منحنی تیتراسیون و روش محاسبهٔ P_I برای این اسیدهای آمینه بصورت زیر می باشد:

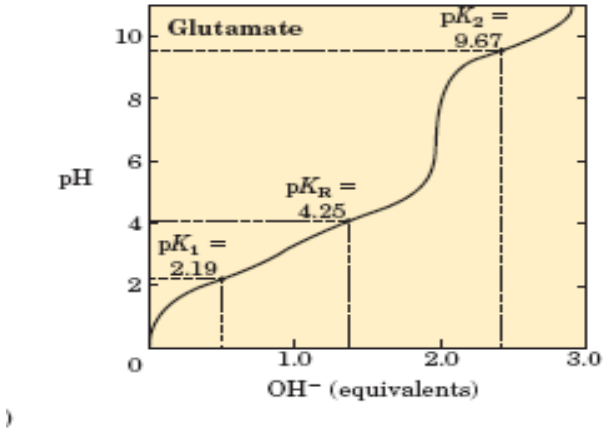
$$\frac{PK_2 + PK_R}{2} = P_I \qquad - \qquad \frac{PK_2 + PK_R}{2} = P_I$$

همان طور که از منحنی تیتراسیون اسیدهای آمینه دیده می شود، در اطراف PK اسیدهای آمینهٔ دارای خصلت بافری هستند. هر اسید آمینه حداقل در دو نقطه می تواند این خصوصیت را داشته باشد.

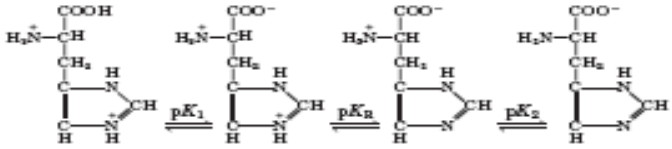


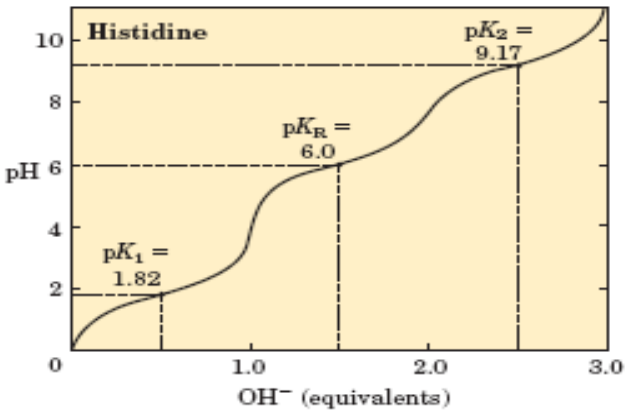
منحنی تیتراسیون یک اسید آمینه با دو گروه قابل یونیزاسیون(گلیسین)





)

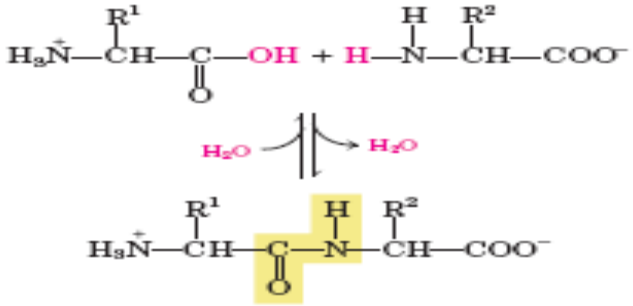




منحنی تیتراسیون اسیدهای آمینه با زنجیره جانبی قابل یونیزاسیون(گلوتامات و هیستیدین)

پیوند پپتیدی: (Peptide Bond)

دو اسید آمینه از طریق یک پیوند آمیدی موسوم به پیوند پپتیدی در یک واکنش تراکمی به یکدیگر متصل شده و جسمی را تولید می نمایند که اصطلاحاً به آن دی پپتید می گویند.



تشکیل پیوند دی پپتیدی یک فرآیند انرژی گیر است. اگر تعداد اسیدهای آمینه ای که به این صورت به زنجیرهٔ پپتیدی اضافه می شود ۳، ۴ و یا ۵ عدد باشد، جسم حاصل را تری، ترا، پنتا پپتید میگویند. زنجیره ای که تا حداکثر تا ۵۰ اسیدآمینه تشکیل شده باشد و زنجیرهٔ پلی پپتیدی و پیش از آن زنجیرهٔ پروتئینی نامیده می شود. زنجرهٔ پروتئینی در

دو سمت خود دو پایانه یا دو ترمینال دارد. گروه آمینی که در انتهای سمت چپ زنجیرهٔ پلی پپتیدی قرار دارد، N- ترمینال و گروه کربوکسیل که در انتهای سمت راست زنجیره قرار دارد،C-ترمینال زنجیره نامیده مخی شود. جهت قراوت اسیدهای آمینه در یک زنجیرهٔ پلی پپتیدی همواره از سمت N- ترمینال به C- ترمینال است. پروتئین ها گاهی تک رشته ای بوده و به آنها پروتئین مونومر گفته می شود ولی گاهی اوقات پروتئین ها از بیش از یک زنجیره تشکیل شده اند که به آنها پروتئین اولیگومر می گویند. پروتئین اولیگومر ممکن است دیمر، تری مر یا تترامر باشند. برای مثال هموگلوبین تترامری از دو زنجیرهٔ α و β می باشد وبه صورت $\alpha_2\beta_2$ نمایش داده می شود. زنجیره های α و β در تترامر هموگلوبین یک پروتومر محسوب می شوند در واقع می توان گفت هموگلوبین یک دایر از پروتومر α و β است.

پروتئین ها یا بر اساس شکل یا بر اساس ترکیب تقسیم می شوند. پروتئینها بر اساس شکل دو دسته اند:

۱. کروی
۲. رشته ای

پروتئین کروی پروتئینی است که نسبت طول به عرض ۴ به ۳ باشد از این دسته می توان : میوگلوبین، هموگلوبین و یا آلبومین را مثال زد.

گاهی اوقات پروتئین ها به صورت رشته ای هستند. از این دسته می توان: کلاژن، کراتین، اکتین و میوزین را نام برد.

پروتئین ها بر اساس ترکیب دو دسته اند:

۱. ساده
۲. مرکب

ساده تنها از توالی اسید آمینه تشکیل شده است ولی مرکب دارای بخش های غیر پروتئینی هستند. مثل: گلیکوپروتئین، لیپوپروتئین، کروموپروتئین ها(پروتئین های رنگی). فرایند گلیکوزاسیون در پروتئین ها فرآیندی است که برای ایجاد فرم طبیعی پروتئین ها ضروری است. اضافه شدن واحدهای لیپیدی در الحاق پروتئین ها به غشاء دارای نقش اساسی است و اضافه شدن بخش های دیگر مثل هم در هموگلوبین به مولکول پروتئین نقش عملکردی می دهد.

جداسازی پروتئین ها

اولین مرحله در فرایند تخلیص پروتئین ها پیدا کردن یک منبع مناسب که از لحاظ وفور برای آن پروتئین و از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه باشد. عموماً منابعی که برای جدا سازی پروتئین ها مورد استفاده قرار می گیرند شامل سلولهای جانوری، گیاهی و میکرواورگانیسم است. امروزه با توسعهٔ مهندسی ژنتیک، جدا سازی اغلب پروتئین ها از

میکرواورگانیسم های پروکاریوتی مثل سوش های مختلف E.Coli یا مخمر هایی ساکارومایسس سروزیه(مخمر نان) صورت می گیرد. انتخاب منبع مناسب برای ترخیص باید با رعایت سادگی به دست آوردن، تولید بالا و نگهداری آسان منبع مورد نظر باشد. بعد از انتخاب منبع، خارج کردن پروتئین از سلول هدف بعدی است. برای این کار روش های متعددی وجود دارد. ساده ترین این روشها استفاده از شوک اسموتیک برای پاره کردن غشای سلولی است. با قرار دادن سلول در محیط هایپوتونیک با اسمولاریتهٔ پایین، محلول آب به درون سلول نفوذ می کند و با متورم کردن آن باعث پاره گی غشای سلول می شود . این عمل برای سلول های جانوری مناسب است. در سلول های گیاهی و میکرواورگانیسم ها به دلیل وجود دیوارهٔ سلولی در برابر عمل تورم مقاومت دیده می شود. جهت رفع این مشکل به نمونهٔ مورد آزمایش آنزیم هایی مثل لیزوزیم اضافه میکنند.

از دیگر روش هایی که برای تخریب غشای سلولی وجود دارد، استفاده از دستگاه هموژنازر یا سونیکیتور که در اولی با استفاده از یک تیغهٔ فلزی که در ظرفی از ماسه یا ذرات شیشه وجود دارد، غشاء سلول پاره می شود و در دومی با استفاده از امواج اولترا سونیک در اثر ارتعاشات محیط داخل سلول پاره می شود. اگر محیط مورد نظر سیتوزولی باشد، مرحلهٔ بعد جدا کردن سیتوزول با سانتریفیوژ از سایر اندامک های سلولس است. در صورتی که پروتئین مورد نظر در اندامک خاصی وجود داشته باشد، با استفاده از سانتریفیوژ افتراقی این عمل صورت می گیرد. در ساتریفیوژ افتراقی مدت زمان و سرعت سانتریفیوژ افزایش یافته و بخشی از اندامک های درون سلولی رسوب می کند. پس از رسوب محتویات سلول به محلول، پروتئین های موجود در محلول پایه باید در برابر عوامل تخریب کننده مثل pH ، تغییرات دما و یا باکتری های مزاحم ، محافظت گردد. عمل حفاظتی در برابر تغییرات pH با اضافه نمودن بافر به محلول انجام می پذیرد. آنزیم های درون سلولی که باعث تخریب پروتئین ها می شوند را نیز می توان با استفاده از ترکیبات آنتی پروتئاز یا کاهش دما، غیر فعال نمود و همچنین رشد باکتری ها را بر روی محلول پروتئینی را با اضافه کردن سدیم آزید(NaN_3) و یا کاهش دما متوقف کرد.

بعد از این کار باید تودهٔ پروتئینی موجود در محلول را با استفاده از روشی از مابقی اجزاء سلول جدا کرد. مشخص شده است که افزایش غلظت یون نمکی محلول پروتئینی باعث افزایش حلالیت پروتئینی در در محلول می شود. این پدیده که به Salting in مشهور است به دلیل پوشش دار شدن گروه های باردار پروتئین توسط یون نمکی و جلوگیری از تداخل این مولکول ها با یکدیگر است. با افزایش غلظت یون نمکی این پدیده معکوس می گردد و پروتئین ها در محلول رسوب می نمایند. این پدیده Salting out است که به دلیل آب پوشی یون های نمکی صورت می گیرد. بنابراین زنجیره های پروتئینی رسوب می نمایند.با استفاده از نمک هیی مثل سولفات آمونیوم می توان مخلوط پروتئینی را از سایر اجزا سلول جدا نمود.

بعد از جدا شدن محلول پروتئینی نیاز است که با روش های دقیقتر تودهٔ پروتئینی را جهت به دست آوردن پروتئین مورد نظر، خالص تر کنیم این عمل توسط روش کروماتوگرافی صورت می گیرد. روش های کروماتوگرافی بر اساس میل ترکیبی متفاوت اجزاء مخلوط نسبت به دو فاز ثابت و متحرک بنا نهاده شده است.

سه روش عمده کروماتوگرافی که در فرآیند تخلیص مورد استفاده قرار می گیرد شامل:

۱) Gel –exclusion chromatography
۲) Affinity chromatography

۳) Ion-exchange chromatography

Gel –exclusion Chromatography

در این روش، مبنا اندازهٔ ذرات است. ستون های این سیستم کروماتوگرافی از بیدهایی(Bead) با قطر منافذ متعدد تشکیل شده و پروتئین ها با توجه به سایز خود به این بیدها وارد می شوند و از میان فضای بین آها عبور می کنند. پروتئین هایی که سایز های بزرگتری از منافذ داشته باشند، سریعتر عبور کرده و از انتهای لوله خارج می شوند در حالی که پروتئین های کوچکتر با یک زمان تأخیری نسبت به پروتئین های بزرگتر، خارج می شوند. بر این اساس می توان پروتئین ها را از یکدیگر جدا کرد.

Affinity chromatography

در این روش مبنای جداسازی، میل ترکیبی پروتئین نسبت به لیگاند خودش است و روش دقیق تری است.

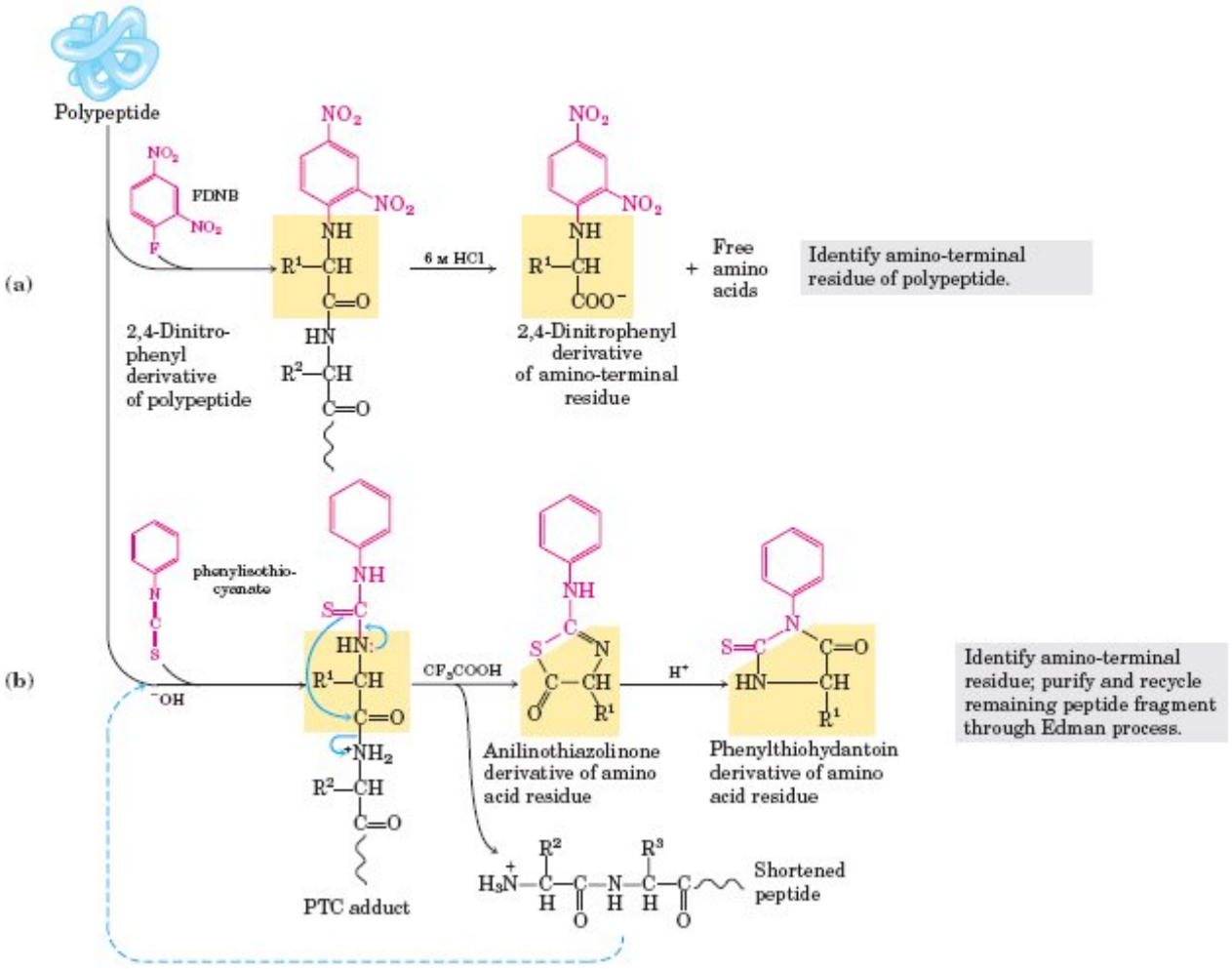
Ion-exchange chromatography

در این روش مبنای جداسازی، بار الکتریکی ذرهٔ پروتئین است. بر این اساس ستون های این سیستم به کاتیون اکس چنجر و آنیون اکسچنجر تقسیم می شوند که اولی مبادله کنندهٔ بار (+) و دومی مبادله کنندهٔ بار (–) است.

تعیین توالی زنجیره های پپتیدی

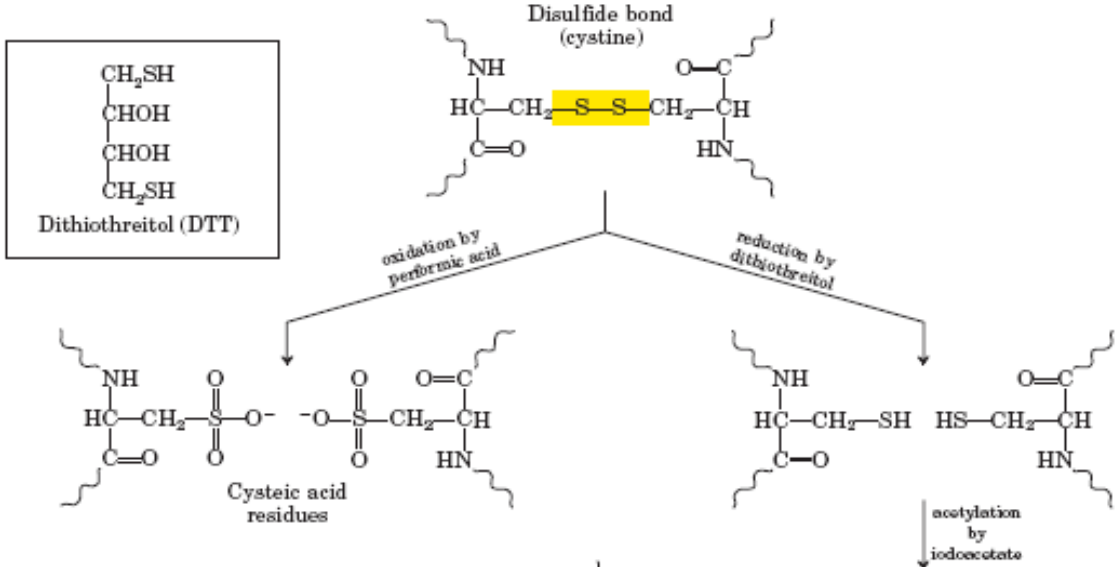
بعد از خالص سازی پروتئین ها نیاز است که توالی دقیق آن از نظر ترتیب و تعداد اسیدهای آمینه مشخص گردد. این روش با دستورالعمل های متفاوتی صورت می گیرد. معمول ترین روش تعیین توالی در پروتئین ها، روش تعیین توالی ادمن است. در روش های ابتدایی که برای تعیین توالی زنجیره های پپتیدی مورد استفاده قرار می گرفت، از ترکیب فلورو دی نیتروبنزن به عنوان ترکیبی جهت جدا کردن اسیدآمینه از انتهای N- ترمینال استفاده می شد. این روش توسط سانچر در ابتدای دههٔ ۵۰ کشف شد.

اسیدآمینهٔ جدا شده، با روش کروماتوگرافی مورد شناسایی قرار می گرفت. اشکال عمدهٔ این روش این بود که علاوه بر اسیدهای آمینه، N- ترمینال ترکیباتی مانند لیزین و آرژنین هم که در زنجیرهٔ جانبی دارای عوامل آمینی بودند نیز با FDNB واکنش داده و باعث ایجاد خطا در شناسایی اسید آمینهٔ N- ترمینال می گردید. به همین دلیل در اواخر دههٔ ۶۰ ادمن از معرف فنیل ایزوتیوسیانات برای جداسازی اسیدآمینهٔ N- ترمینال استفاده کرد. در روش وی هر اسیدآمینه به صورت یک مشتق فنیل تیو هیدا نتوئین – اسیدآمینه (PTH-aa) از زنجیره جدا و مورد شناسایی قرار می گرفت. روش ادمن برای پپتیدها و پروتئین هایی که کمتر از ۶۰ اسید آمینه داشته باشند، یک روش مطلوب می باشد.



چگونگی تعیین اسید آمینه N–ترمینال به دو روش Sanger و Edman

اگر پروتئین مورد نظر بیش از سک زنجیره ساختمانی داشت که این دو زنجیره به پلهای دی سولفیدی به یکدیگر متصل بودند در ابتدا با استفاده از ترکیبات شیمیائی باید این اتصالات دی سولفیدی را از بین برد که این کار یا به روش احیائی با استفاده از DTT و یا به روش اکسیداتیو با استفاده از Performic Acid صورت میپذیرد.



شکستن پیوند دی سولفیدی به روش اکسیداتیو و احیاء

اگر تعداد اسیدهای آمینه در زنجیره بیش از این باشد، نیاز است که در ابتدا زنجیره های پپتیدی با روش شیمیایی یا آنزیمی قطعه قطعه شده سپس با روش ادمن مورد شناسایی قرار گیرد. از ترکیبات شیمایی که برای این منظور استفاده می توان استفاده کرد، می توان به سیانوژن برمید (CNBr) اشاره کرد که باعث شکسته شدن زنجیره های پپتیدی در محل اتصال اسیدآمینهٔ متیونین با اسیدآمینهٔ بعدی آن می گردد. CNBr متیونین را به اسیدآمینهٔ C- ترمینال تبدیل می کند.

روش های آنزیمی متنوع بوده و از آنزیم های مورد استفاده می توان به تریپسین و یا کیموتریپسین اشاره کرد. تریپسین اتصال لیزین و آرژینین را با اسیدآمینهٔ بعدی و کیموتریپسین اتصال فنیل آلانین، تریپتوفان و تیروزین با اسیدآمینهٔ بعدی قطع می کند. در مطالب بعد با انواع بیشتری از این نوع ترکیبات آشنا میشویم. قطعات حاصل از حذف شیمیایی و آنزیمی پپتیدها، هر کدام با روش ادمن تعیین توالی می شوند و سپس این قطعات تعیین توالی شده برای تعیین بهترین Alignment در کنار هم قرار می گیرند. اگر زنجیرهٔ پپتیدی حاوی بیش از یک زنجیرهٔ پروتئینی باشد، نیاز است که در ابتدا زنجیره ها از هم جدا شوند. این عمل با شکستن پیوندهای دی سولفیدی به طریقهٔ اکسیداتیو یا احیایی مطابق شمای زیر صورت می پذیرد:

الکتروفورز

بعد از جدا سازی محلول پروتئینی با روش کروماتوگرافی نیاز است که غلظت یا مقدار پروتئین مورد نظر را با استفاده از یک روش کیفی مشخص کنیم. این عمل با استفاده از تکنیک الکتروفورز صورت می گیرد. این تکنیک جهت تعیین خلوص و مقدار یک پروتئین به لحاظ کیفی حائز اهمیت است. پروتئین ها به دلیل داشتن گروه های باردار متعدد در سطح خود، در میدان الکتریکی با توجه به بار الکتریکی خالص خود می توانند به سمت یکی از قطب های (+) یا (-) حرکت کنند. میزان حرکت در میدان الکتریکی به مقدار E/m آن ذرهٔ پروتئینی بستگی دارد.

الکتروفورز بر روی بستر ها یا ماتریکس های متفاوتی انجام می شود ولی ساده ترین شکل الکتروفورز پروتئین ها، روش SDS-PAGE است در این روش از ترکیب سدیم دودسیل سولفات برای پوشش دار کردن بارهای الگتریکی در زنجیره های پپتیدی استفاده می شود. بستر یا ماتریکس الکتروفورز در این روش ژل پلی آکریل آمید است که توسط زنجیره های بیس آکریل آمید در هم تنیده می شود. قطر منافذ ذرات ژل بستگی به میزان غلظت آکریل آمید و بیس آکریل آمید دارد.

با قرار دادن نمونه در بالای ژل و برقراری جریان الکتریکی بین دو سر آن، ذرهٔ پروتئینی شروع به حرکت می کند و با توجه به خلوص ذره ای درسطح ژل پس از رنگ آمیزی با رنگ هایی مثل کروماسی بریلینات بلو و یا نقره رنگ آمیزی می گردد که از تعداد لکه ها می توان به خلوص و غلظت مادهٔ مورد نظر پی برد.

روش های سنجش پروتئین

سنجش فعالیت های پروتئینی، بخش انتهایی در فرآیند تخلیص است. این عمل با استفاده از روش آنزیمی یا الایزا(Elisa)صورت می گیرد. در روش آنزیمی معمولاً از واکنش های آنزیمی استفاده می گردد که منجر به تولید

نوعی محصول که در ناحیهٔ خاصی از طول موج UV یا Visible دارای جذب نوری می باشد، استفاده می شود. برای مثال در سنجش غلظت گلوکز از آنزیم گلوکز اکسیداز استفاده می شود. این ترکیب با تبدیل NAD^+ که در طول موج 340 nm فاقد جذب است، به مادهٔ NADH که در آن طول موج دارای جذب نوری است، غلظت پروتئین مورد نظر را محاسبه می کنند.

در روش دقیق تر که روش الیزا نام دارد، بر علیه پروتئین مورد نظر (یکی از اپی توپ های آن) یک آنتی بادی مونوکلونال تهیه شده و اثر داده می شود و در مرحلهٔ بعد با بافر شستشو، آنتی بادی های اتصال نیافته شسته شده و یک آنتی بادی مونوکلونال دیگر بر علیه یکی از اپیتوپ های دیگر پروتئین است، بر آن اثر داده می شود. آنتی بادی دوم متصل به یک آنزیم است که این آنزیم می تواند یک سوبسترای غیر رنگی را به سوبسترای رنگی تبدیل کند.

ساختمان سه بعدی پروتئین

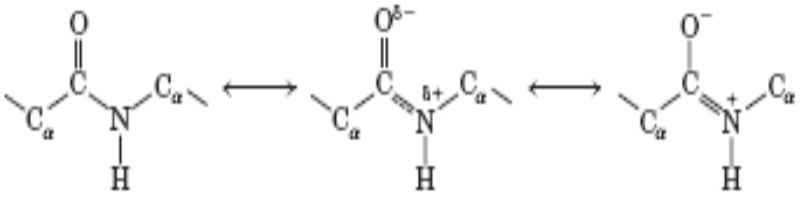
ساختمان اول پروتئین ها

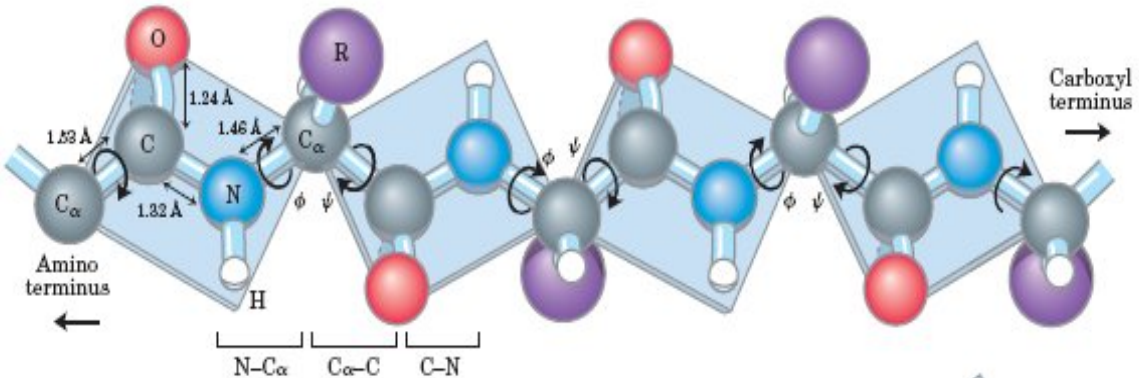
پیوندهای پپتیدی از جمله ویژگی هایی که دارند این است که از چهار اتم C، O ، N و H تشکیل شده اندکه این چهار اتم به صورت ترانس در مجاورت یکدیگر قرار گرفته اند. مطالعات پاولی در ابتدای دههٔ ۵۰ مشخص کرد که این چهار اتم در یک صفحه و بصورت ترانس هستند و پیوند پپتیدی علی رغم اینکه از جهت ظاهر مشابه پیوندهای ساده است، ولی در واقع دارای خصوصیت پیوندهای دوگانه است. این پدیده از روی مطالعهٔ طول پیوند پپتیدی و مقایسهٔ آن با پیوند ساده و. مضاعف CN مشخص گردید:

پیوند ساده < پیوند پپتیدی < پیوند دوگانه

علاوه بر پیوند پپتیدی که فاقد آزادی چرخش در زنجیرهٔ اصلی پپتیدی است، سایر پیوند ها آزادی چرخش دارند. از جمله این پیوندها می توان پیوند ساده $C\boldsymbol{C_\alpha}$- و -N$\boldsymbol{C_\alpha}$ اشاره کرد. زاویه ای که که از چرخش پیوند حول -C$\boldsymbol{C_\alpha}$ ایجاد می گردد، زاویهٔ Ψ. و زاویهٔ حاصل از چرخش -N$\boldsymbol{C_\alpha}$ اصطلاحاً ϕ نامیده می شود. این زوایا می توانند از 180- تا 180+ تغییر کنند. اگر جهت نگاه بیننده از سمت $\boldsymbol{C_\alpha}$ به پیوند باشد، جهت چرخش در جهت عقربه های ساعت مقادیر ϕ یا Ψرا مثبت و در خلاف جهت عقربه های ساعت مقادیر ϕ یا Ψ منفی خواهد بود است.

از لحاظ تئوریک این مقادیر چرخش برای زنجیره های پپتیدی امکان پذیر است ولی به لحاظ تجربی مطالعاتی که توسط راما چاندران در اواخر دههٔ ۶۰ صورت پذیرفت مشخص کرد که این مقادیر در محدودهٔ مجازی که تنها بستگی به عدم تداخل شعاع های واندروالسی در اتم های تشکیل شده می باشد. مطالعات راما چاندران منجر به ارائهٔ نقشهٔ راما چاندران شد. مطالعات وی با زنجیره های سنتتیک به صورت پلی گلایسین به دلیل این که زنجیره های جانبی تنها از یک اتم هیدروژن تشکیل شده اند، آزادی چرخش به مقدار زیادی وجود دارد و مقادیر ϕ و Ψ در هر ربع از این نمودار راما چاندران قابل روئیت است. در زنجیره های پلی آلانین یک زنجیرهٔ جانبی فقط حاوی یک $\boldsymbol{CH_3}$ است. این آزادی چرخش بطور چشم گیری کاهش می یابد. مطالعات دانشمندان مشخص کرد که هر کدام از این ساختارهای دوم در پپتیدها می توانند در محدودهٔ مشخصی از نقشه راما قرار گیرند.





پیوندهای Φوφ درساختار پپتیدها

ساختار دوم پروتئین ها

تاخوردگی (Folding) بخش های کوچکی از یک زنجیرهٔ پپتیدی دز فضا است. این تا خوردگی ها در حین سنتز پروتئین بر ریبوزوم در زنجیرهٔ پپتیدی ایجاد می شود و به دو دستهٔ اصلی مارپیچ های α (α-helix) و صفحات چین دار β (β-pleated sheets) تقسیم می شوند. مارپیچ های α، ساختار مارپیچی حول یک محور فرضی بنام محور مارپیچ می باشد هر مارپیچ از سه پارامتر تشکیل شده است:

۱) پیچ یا pitch (طول هر دور مارپیچ

۲) N تعداد رزیدیو(باقیمانده) در هر دور مارپیچ

۳) H فاصلهٔ هر دو رزیدیو در هر دور مارپیچ

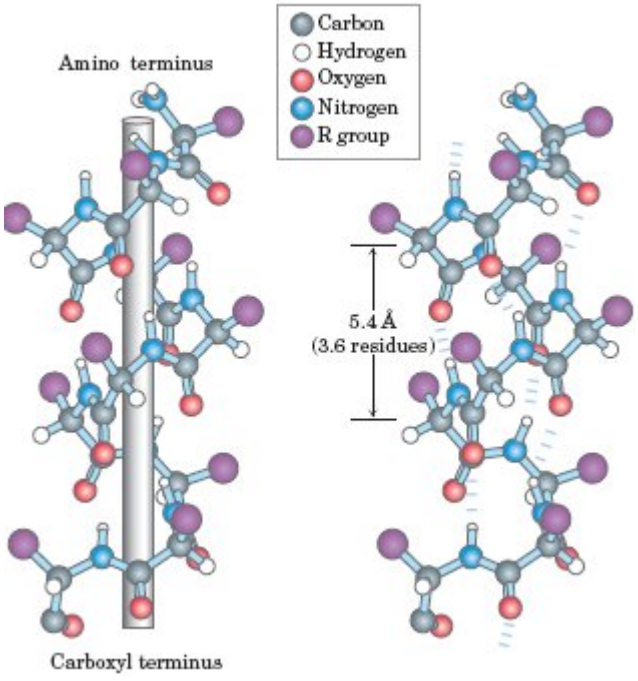
$$P=n*h$$

مارپیچ های α که فراوانترین نوع مارپیچ ها در ساختار پروتئینی هستند، به صورت چپگرد و راستگرد قابل شناسایی هستند. مارپیچ چپگرد مارپیچی است که اگر انگشت شصت دست راست را در جهت N به C نمایش دهد، جهت بسته شدن انگشتان دست راست است. اغلب مارپیچ هایی که در ساختار پروتئین یافت می شوند، از نوع مارپیچ راستگرداند. خصوصیات فیزیکی این مارپیچ عبارتند از:

P=0.54 nm h= 0.15 nm n= 3.6

در هر دور این مارپیچ ۱۳ اتم یافت می شود. بنابراین مارپیچ α را به صورت 3.6_{13} نمایش می دهیم (۳,۶ رزیدیو و ۱۳ اتم). عاملی که باعث پایداری این ساختار می شود، پیوندهای هیدروژنی است که بین C=O و N-H از اسیدآمینهٔ n و n+4 تشکیل می شود. علاوه بر زنجیرهٔ α مارپیچ های دیگری هم دیده می شود(به ندرت). از جمله 3_{10}helix و π helix. این دو ساختار به ترتیب نسبت به مارپیچ α ساختارهایی باریک تر و کشیده و

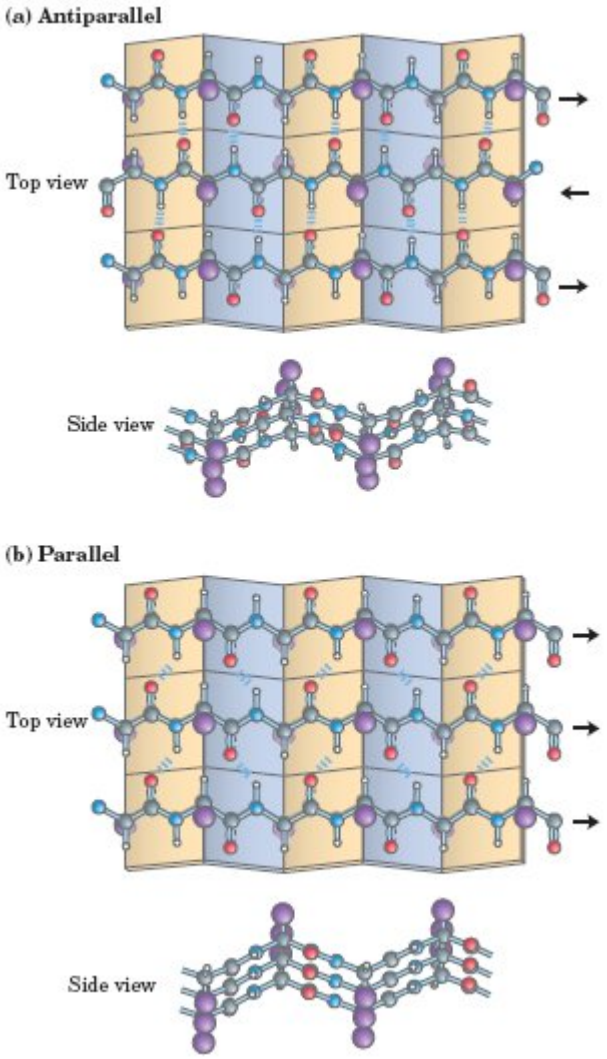
پهن و فشرده هستند. تعداد رزیدیوها برای 3_{10}helix ، ۳ و تعداد اتم ها ۱۰ عدد است. پیوند هیدروژنی بین گروه کربونیل و آمینی از رزیدیو n و n+3 برقرار می شود. در π helix که بصورت)4.4_{16}π(نمایش می دهند، ۴,۴ اسید آمینه و ۱۶ اتم دارد. عامل پایدار کننده پیوند هیدروژنی بین رزیدیوی ۸ و n+5 است.



ساختار مارپیچ آلفا در پروتئینها

صفحات چین دار β

این نوع ساختار از تا خوردگی قسمت های طویل تری از زنجیره های پپتیدی حاصل می شود. صفحات چیندار β ازبخش هایی موسوم به زنجیره های β تشکیل یافته اند که این زنجیره های β با ساختارهای نامنظمی موسوم به لوپ ها (Loop) متصل شده اند. عامل پایدار کنندهٔ این ساختارها که به دو صورت صفحات چیندار β موازی و نا موازی یافت می شوند، پیوندهای هیدروژنی بین گروه های آمین و کربونیل در زنجیره های βی مجاور به یکدیگر است. صفحات چیندار β با نواحی موسوم به لوپ به هم متصل می شوند. مهمترین این لوپ ها β-bend است. β-bendها به دوصورت خم های نوع یک و نوع دو شناسایی می شوند. این ساختارها از طریق پیوند هیدروژنی بین گروه های کربونیل وآمینی از اسیدآمینهٔ ۸ و 3+8 پایدار می شوند. تفاوت این دو خم در این است که در تیپ II، اسید آمینهٔ دوم معمولاً یک اسیدآمینهٔ گلایسین است و بنابراین این نوع خم از آزادی چرخش بیشتری نسبت به نوع I برخوردار اند.



ساختار صفحات چین دار بتا

ساختار سوم پروتئین ها

تا خوردگی نهایی یک زنجیرهٔ پپتیدی در فضا است هنگامی که یک پروتئین تک زنجیره آرایش کلی خود را در فضا به دست می آورد به آن ساختار سوم می گویند. ولی ساختار سوم بطور خود به خود و دفعتاً ایجاد نمیشود بلکه از ساختار کوچکتری موسوم به Motif و Domain عبور می کند. Motifیا super secondary آرایش هایی از ساختار سوم هستند که از کنار هم قرار گرفتن اجزای ساختار دوم ایجاد می شود. Domainها نواحی مستقلی از یک زنجیرهٔ پپتیدی هستند که در حین فرآیند تاخوردگی به طور مستقل از یکدیگر دچار تا خوردگی می شوند و هر یک نقش و عمل بیولوژیکی خاص خودش را دارد. از کنار هم قرار گرفتن Domainها ساختار سوم بدست می آید.

ساختار سوم میوگلوبین

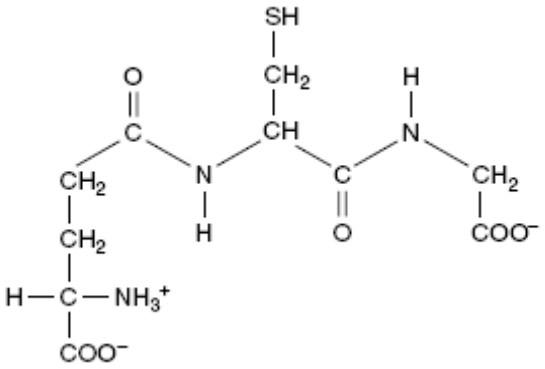
ساختار چهارم

مربوط به پپتیدهایی است که بیش از یک زنجیرهٔ پپتیدی تشکیل شده است. طرز قرار گیری این زنجیره ها را در کنار هم اصطلاحاً ساختار چهارم این پروتئین ها می گویند. برای مثال هموگلوبین از دو زنجیرهٔ α و دو زنجیرهٔ β تشکیل شده است. نحوهٔ قرارگیری زنجیره های α و β به گونه ای است که هر زنجیرهٔ α با دو زنجیرهٔ β و هر زنجیرهٔ β با دو زنجیرهٔ α در تماس است. این مطالعات را مطالعات ساختار چهارم می نامند.

بسیاری از پپتیدها فعالیت فیزیولوژیک دارند.

در سلولهای جانوران، گیاهان و باکتریها پلی‌پپتیدهای مختلفی با وزن مولکولی پائین وجود دارد (۳ تا ۱۰۰ ریشه اسید آمینه) که فعالیت فیزیولوژیک بارزی به عهده دارند. برخی از این پلی‌پپتیدها از جمله اکثر هورمونهای پلی‌پپتیدی پستانداران، تنها دارای پیوند پپتیدی بین گروههای آلفا ـ آمینو و آلفا ـ کربوکسیل L۲۰ ـ آلفا ـ آمینواسید موجود در پروتئینها می‌باشند. البته، ممکن است اسیدهای آمینه دیگر یا مشتقات اسیدهای آمینه پروتئینی نیز در ساختمان پلی‌پپتیدها وجود داشته باشد.

در مولکول گلوتاتیون (*Glutathoione* ـ شکل۴-۵) گلوتامات انتهایی N از طریق یک پیوند غیرآلفا پپتیدی به سیستئین متصل شده است. این مولکول مورد نیاز آنزیمهای متعددی است. گلوتاتیون و آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز در تشکیل پیوندهای دی سولفیدی صحیح در بسیاری از پروتئینها و هورمونهای پلی‌پپتیدی شرکت داشته و در متابولیسم گزنوبیوتیکها (*Xenobiotics*) نقش دارند.



مولکول گلوتاتیون(گلوتامات،سیستئین وگلیسین)

آنتی بیوتیکهای پلی‌پپتیدی که توسط قارچها ساخته و آزاد می‌شوند دارای هر دو نوع اسید آمینه D و L و اسیدهای آمینه‌ای که در پروتئینها وجود ندارند می‌باشند. از جمله این آنتی‌بیوتیکها می‌توان به تیروسیدین (*tyrocidine*) و گرامیسیدین S (*Gramicidins*) اشاره کرد. این پلی‌پپتیدهای حلقوی دارای D فنیل آلانین و اسید آمینه غیرپروتئینی اورنیتین می‌باشند.

نمونه متفاوت دیگر هورمون آزاد کننده تیروتروپین یا (*TRH*) می‌باشد. گلوتامات انتهای ـ N این پپتید حلقوی شده به اسید پیروگلوتامیک تبدیل گردیده و گروه کربوکسیل پرولین انتهای ـ C به صورت آمید درآمده است.

ممکن است یک پلی‌پپتید موجود در بدن پستانداران بیش از یک پلی‌پپتید قوی از نظر بیولوژیک داشته باشد. درون ساختمان اولیه بتا ـ لیپوتروپین (یک هورمون هیپوفیزی که آزادسازی اسیدهای چرب را از بافت چربی تحریک می‌کند) توالی اسیدهای آمینه هورمونهای پلی‌پپتیدی متعدد دیگری وجود دارد که اعمال فیزیولوژیک مختلفی به عهده دارند. در واقع پلی‌پپتید بزرگتر پیش ساز (*Precursor*) پلی‌پپتیدهای کوچکتر است.

نیروهای غیرکووالان بر شکل پپتیدها تأثیر می‌گذارند.

با اینکه یک پلی‌پپتید ممکن است اشکال (آرایش فضایی) بسیار متعددی داشته باشد، در یک محلول اشکال معدودی به صورت غالب وجود دارد. وجود این اشکال خاص نشانه دخالت عواملی مانند موانع فضایی، تداخلات نیروهای کولنی، پیوند هیدروژنی و تداخلات هیدروفوبی می‌باشد. برای اعمال اثر فیزیولوژیک پپتیدها و پروتئینها اشکال خاصی مورد نیاز است.

توالی پروتئینها: تعیین ساختمان اولیه

تخلیص پپتیدها قبل از آنالیز

تا زمانیکه درجه همگونی یک پپتید که به کمک روش *SDS-PAGE* تعیین می‌شود به بیش از ۹۵ درصد نرسد، اطلاعات مربوط به توالی پپتیدها قابل تفسیر نخواهد بود. بنابراین لازم است ابتدا پپتیدها را به کمک تکنیکهای مرسوم برای تلخیص پروتئینها به صورت خالص تهیه کرد.

معمولاً ابتدا ترکیب اسیدهای آمینه تعیین می‌شود.

معمولاً قبل از تعیین توالی اسیدهای آمینه موجود در یک پپتید ترکیب اسیدهای آمینه آن را معین می‌کنند تا اشتباهات احتمالی مشخص شده و اطلاعات بعدی در مورد توالی اسیدهای آمینه تأیید گردد. ابتدا پیوند پپتیدی متصل کننده اسیدهای آمینه با روش هیدرولیز شکسته می‌شود، سپس اسیدهای آمینه آزاد شده با روش *HPLC* یا کروماتوگرافی مبادله یونی جدا و مشخص می‌شوند.

در هیچ فرآیندی هیدرولیز پپتیدها به طور کامل و بدون از دست رفتن برخی ترکیبات اعظم انجام نمی‌گیرد. روش انتخابی برای هیدرولیز پپتیدها با استفاده از نمونه‌های تکثیر شده در *HCl* ۶ نرمال است که در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد و در لوله‌های شیشه‌ای دارای خلاء و کاملاً دربسته به مدت ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت قرار می‌گیرند. این فرآیند تمام مولکولهای تریپتوفان (*Trp*) و سیستئین (*Cys*) را تخریب کرده و در صورت وجود یونهای فلزی برخی از مولکولهای متیونین (*Met*) و تیروزین (*Tyr*) نیز از بین می‌روند. اسیدهای آمینه سرین (*Ser*) و ترئونین (*Thr*) نیز به طور کامل به دست نمی‌آیند. پیوندهای بین دو مولکول والین (*Val-Val*)، دو مولکول ایزولوسین (*Ile-Ile*) و بین والین و ایزولوسین (*Ile-Val, Val-Ile*) در برابر هیدرولیز بسیار مقاوم بوده، اما گلوتامین (*Gln*) و آسپاراژین (*Asn*) گروههای آمید خود را از دست داده، به اسیدگلوتامیک (*Glu*)و اسید آسپارتیک (*Asp*) تبدیل می‌شوند.

چگونه می‌توان این اشکالات را برطرف کرد؟ سیستئین

پیش از تعیین توالی اسیدهای آمینه باید پلی پپتیدهای بزرگ را خرد کرد.

وسایل تعیین توالی اتوماتیک اسیدهای آمینه (*Sequenator*) در مورد پلی‌پپتیدهایی که به طول ۲۰ تا ۶۰ ریشه اسید آمینه هستند، بهترین کارآیی را دارند. بنابراین بهتر است خرد کردن مولکول پلی‌پپتیدهای بزرگ به صور اختصاصی و کامل و در جایگاههای نسبتاً نادر انجام گیرد. ترکیبات زیر دارای این خصوصیت هستند.

CNBr: ابتدا ریشه‌های سیستئین با استفاده از اسید یدواستیک تغییر داده می‌شود، سپس مولکول *CNBr* عمل خرد کردن پپتید را از سمت *CooH* متیونین انجام می‌دهد. چون متیونین به طور نسبتاً نادر در پلی‌پپتیدها یافت می‌شود، با این روش قطعات پپتیدی با اندازه دلخواه به دست می‌اید.

تریپسین: این آنزیم روی ناحیه *COOH* لیزین و آرژنین عمل می‌کند. چنانچه ابتدا ریشه‌هایی لیزین با استفاده از انیدرید سیتراکونیک به مشتق خود تبدیل شوند، تریپسین تنها بر ریشه‌های آرژنین اثر خواهد کرد (طی این واکنش برگشت‌پذیر بار الکتریکی مثبت لیزین به بار منفی تبدیل می‌شود). تبدیل ریشه‌های آرژنین به مشتق آنها سود چندانی ندارد زیرا تعداد ریشه‌های لیزین در پپتیدها نسبتاً بیشتر است. البته روش فوق برای خرد کردن قطعات بعدی به کمک *CNBr* مفید است.

ارتویدوزوبنزن: *O-Iodosobenzen* ریشه‌های نسبتاً نادر *Trp-X* را جدا می‌کند. در این روش نیازی به حفظ کردن ریشه‌های دیگر نیست.

هیدروکسیلامین: این ماده پیوندهای نسبتاً نادر بین آسپاراژین و گلیسین را قطع می‌کند. با این حال این روش فایده کمی چندانی ندارد.

پروتئاز *V8* : پروتئاز *V8* که از استافیلوکوک طلایی به دست می‌آید ریشه‌های پپتیدی بین اسید گلوتامیک و ریشه *X* را قطع می‌کند و در صورتی که ریشه *X* یک ماده هیدروفوب باشد این کار را در شرایط بهتری انجام می‌دهد. پیوند

اسیدگلوتامیک ـ لیزین در مقابل عمل این پروتئاز مقاوم است. انجام این واکنش قبل از خرد کردن قطعات در مرحله بعدی توسط $CNBr$ مفید است.

هیدرولیز اسیدی ملایم: در این روش پیوند نادر بین اسید آسپارتیک و پرولین شکسته می‌شود.

معمولاً به کمک دو یا سه تقسیم پلی‌پپتید اولیه در محل ریشه‌های متیونین، تریپتوفان، ارژینین و آسپاراژین ـ گلیسین و تقسیم مناسب قطعات به دست یک پلی‌پپتید را مشخص کرد. با رفع مشکلات (Cys) پیش از هیدرولیز به اسید سیستئیک که یک ترکیب مقاوم در برابر اسید است تبدیل می‌شود. میزان تریپتوفان (Trp) به دنبال هیدرولیز بازی تخمین زده می‌شود. در این فرآیند اسیدهای آمینه سرین (Ser)، ترئونین (Thr)، آرژینین (Arg) و سیستئین (Cys) از بین می‌روند. اطلاعات مربوط به سرین (Ser) و ترئونین (Thr) از زمان صفر هیدرولیز استنتاج می‌شود و میزان والین (Val) و لوسین (Leu) از اطلاعات ساعت ۹۶ تخمین زده می‌شود. به اسیدهای دوکربوکسیلی و آمیدهای آنها مجموعاً «Gix» یا «Asx» گفته می‌شود. نهایتاً از آنجا که مقدار نسبی هر اسید آمینه باید به صورت یک عدد صحیح بیان شود، ارقام اعشاری نسبت هر آمینواسید به نزدیکترین عدد صحیح گرد می‌شود.

ساختمان و عمل پروتئینها

روشهای متعدد تقسیم‌بندی پروتئینها

از آنجا که سیستم یکسانی برای تقسیم‌بندی پروتئینها وجود ندارد می‌توان آنها را براساس قابلیت حل شدن، شکل، عملکرد بیولوژیک یا ساختمان سه بعدی تقسیم کرد. در یک سیستم با کاربرد محدود در بیوشیمی بالینی، افتراق بین «آلبومینها»، «گلوبولینها»، «هیستونها» و غیره براساس قابلیت حل شدن آنها در محلولهای نمکی آبی صورت می‌گیرد. پروتئینها را می‌توان براساس شکل کلی آنها نیز تقسیم کرد. به این ترتیب، پروتئینهای کروی (مانند بسیاری از آنزیمها) دارای زنجیره‌های پلی‌پپتیدی به هم پیچیده و کاملاً تا شده هستند و نسبت محوری (نسبت طول مولکول به عرض آن) کمتر از ۱۰ بوده و معمولاً بیش از ۳-۴ نیست، در حالیکه نسبت محوری پروتئینهای رشته‌ای بیشتر از ۱۰ است.

در سیستمهای خاص تقسیم‌بندی، پروتئینهای کمپلکس خاصی که اهمیت زیادی از نظر پزشکی دارند، از هم افتراق داده می‌شوند. به این ترتیب لیپوپروتئینهای پلاسما براساس قابلیت حرکت آنها در الکتروفورز در PH برابر ۸/۶ تحت عنوان لیپوپروتئینهای آلفا ـ یک، آلفا ـ دو یا بتا تقسیم می‌شوند یا براساس رسوب در اولتراسانتریفوژ به گروههای شیلومیکرون، $VLDL$، LDL ، HDL یا $VHDL$ تقسیم می‌شوند. همچنین می‌توان لیپوپروتئینها را براساس خواص ایمونولوژیک آپوپروتئینهای موجود در آنها (F و E و D و C و B و A) تقسیم کرد. همچنین پروتئینها را می‌توان براساس ساختمان سه بعدی آنها که عمدتاً با روش کریستالوگرافی با اشعه X تعیین می‌شود، تقسیم کرد. به عنوان مثال پروتئینهایی که به نوکلئوتیدها اتصال می‌یابند در ساختمان سوم خود دارای ناحیه ($domain$) اتصالی به نوکلئوتید هستند.

فیبروئین ابریشم

ساختمان اولیه فیبروئین که پروتئین اصلی الیاف کرم ابریشم است، تقریباً به طور کامل از اسید آمینه گلیسین تشکیل شده که به طور متناوب با آلانین یا سرین قرار دارد. این سه اسد آمینه مجموعاً بیش از ۸۵ درصد اسیدهای آمینه موجود در فیبروئین را تشکیل می‌دهند. این ترکیب غیرمعمول باعث می‌شود نواحی بلندی از پلی‌پپتید به صورت یک بسته بسیار متراکم و در عین حال گسترده از صفحه بتای ناموازی در آید. حداکثر کشیدگی این ساختمان باعث می‌شود که الیاف ابریشم در برابر نیروهای کششی بسیار مقاوم باشد. با این حال این الیاف قابلیت انعطاف زیادی نیز دارد و این امر نشانگر آن است که اتصالات بین صفحات از نوع پیوند هیدروژنی نبوده بلکه اتصالات هیدروفوبی ضعیف بین گروههای R برقرار می‌شود.

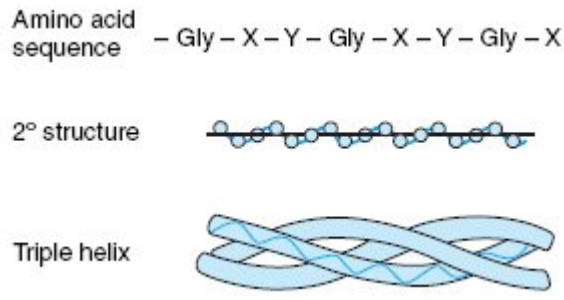
در فیبروئین ابریشم مقادیر کمی از اسیدهای آمینه «حجیم ـ *bulky*» مانند والین یا تیروزین نیز وجود دارد که نسبت این اسیدهای آمینه بین انواع مختلف کرمها متفاوت است. این ریشه‌های حجیم که به طور دوره‌ای در ساختمان پروتئین وجود دارند، ناحیه صفحات بتا را قطع می‌کنند و قابلیت انعطاف لازم را به یک پله مناسب و خوب می‌دهند.

کلاژن

تروپوکلاژن یک مولکول مارپیچی سه‌گانه و غنی از گلیسین، پرولین و هیدروکسی پرولین است.

تروپوکلاژن واحد اصلی کلاژن بود و از سه زنجیره پلی‌پپتیدی تشکیل شده که طول هر یک حدود هزار ریشه اسید آمینه است. هر پلی‌پپتید یک مارپیچ چپگردان (مارپیچ غیرآلفا) تشکیل می‌دهد که در هر دور آن حدود سه ریشه اسید آمینه وجود دارد. سپس سه پلی‌پپتید مارپیچی چپگرد به دور هم پیچیده و یک مارپیچ دیگر یا سه تایی راستگرد ایجاد می‌کند. ساختمان این مارپیچ مضاعف با برقراری پیوندهای هیدروژنی بین هر یک از زنجیره‌های پلی‌پپتیدی ثابت می‌شود، در حالیکه پیوندهای هیدروژنی در مارپیچ آلفا درون ساختمان پلی‌پپتید قرار دارند. مارپیچ مضاعف متشکل از سه مارپیچ دیگر در مقابل باز شدن مقاومت می‌کند. زیرا جهت چرخش مارپیچ اصلی و سه پلی‌پپتیدی تشکیل دهنده آن در جهت عکس یکدیگر است. این اصل در ساخت کابلهای فولادی برای آویزان نگه داشتن پلها رعایت می‌شود. در رشته‌های کلاژن کامل (که ابعاد آنها ۳۰۰* ۱/۵ نانومتر است) این شکل مارپیچی مستحکم و وسیع وجود دارد.

از هر سه اسید آمینه یکی از آنها گلیسین است.



ساختمان شماتیک کلاژن

ساختمان اولیه منحصر به فرد کلاژن به صورت $(Gly\text{-}X\text{-}Pro)_n$ یا $(Gly\text{-}X\text{-}Hyp)_n$ می‌باشد یعنی از هر سه اسید آمینه یکی گلیسین بوده و ریشه قبل از آن پرولین یا هیدروکسی پرولین است. این سه اسید آمینه نقش ساختمانی مهمی به عهده دارند. گروه R گلیسین کاملاً کوچک بوده، به راحتی در بخش مرکزی مارپیچ سه‌گانه تروپوکلاژن قرار می‌گیرد. ساختمان پرولین و هیدروکسی پرولین قابلیت انعطاف نداشته و باعث سختی مولکول می‌شوند، در عین حال

دفع متقابل حلقه‌های پرولین باعث می‌شود که زنجیره پلی‌پپتیدی به صورت یک مارپیچ چپگرد شامل سه ریشه اسید آمینه در هر دور باز شود. گروه OH- هیدروکسی پرولین علاوه بر مشارکت با اتمهای اکسیژن و نیتروژن آمیدی در تشکیل پیوندهای هیدروژنی برای تثبیت مارپیچ سه‌گانه شرکت می‌کنند و در نهایت، گروه OH- هیدروکسی لیزین محل اتصال پلی ساکاریدها می‌باشد.

تغییرات وسیع پس از مرحله ترجمه برای تکمیل ساختمان پروکلاژن

در ساختمان ماده پیش‌ساز تروپوکلاژن یعنی پروکلاژن (*Procollagen*) زوائد بزرگی در دو انتهای N و C وجود دارد که ترکیب اسیدهای آمینه آنها مشابه یک پروتئین غیرکلاژنی است. این زوائد طی فرآیند پردازش پس از ترجمه (*Posttranslational Processing*) به روش پروتئولیز انتخابی توسط پپتیدازهای مختلف از جمله پروکلاژن N- پپتیداز برداشته می‌شوند. سایر تغییرات در مرحله پس از ترجمه عبارتنداز هیدروکسیلاسیون، اکسیداسیون، ترکیب و تراکم آلدول، احیا و گلیکوزیلاسیون. به عنوان مثال هیدروکسی پرولین و هیدروکسی لیزین موجود در کلاژن از هیدروکسیلاسیون ریشه‌های پرولین و لیزین متصل به پپتید به دست می‌آیند. این واکنشهای هیدروکسیلاسیون با واسطه آنزیمهای پرولیل هیدروکسیلاز و لیزین هیدروکسیلاز انجام می‌شود. کوفاکتور این آنزیمها اسید اسکوربیک (ویتامین C) می‌باشد. سپس برخی از ریشه‌های هیدروکسی لیزین کلاژن تحت تأثیر عمل متوالی گالاکتوزیل ترانسفراز و گلوکوزیل ترانسفراز قرار گرفته و با اضافه شدن گالاکتوز یا دی ساکارید گالاکتوزیل ـ گلوکز، گلیکوزیله می‌شوند.

پیوند متقاطع کووالان الیاف کلاژن را پایدار می‌کند.

زنجیره‌های تروپوکلاژن به یکدیگر پیوسته و میکروفیبریلهای کلاژن را تشکیل می‌دهند. برای پایداری ساختمان این میکروفیبریلها ابتدا پیوندهای هیدروژنی داخل زنجیره‌ای و سپس پیوندهای کووالان درون مارپیچ‌های تروپوکلاژن و بین آنها برقرار می‌شود. آنزیم لیزیل اکسیداز که برای عملکرد خود به فلز مس احتیاج دارد، گروه اپسیلون آمینوی ریشه‌های لیزیل و هیدروکسیل را به آلدئید تبدیل می‌کند. سپس این آلدئیدهای پپتیدی با گروه آلدول یا گروه اپسیلون آمینوی ریشه‌های لیزین یا هیدروکسی لیزین اکسید نشده ترکیب شده باز *Schiff* تشکیل می‌دهند. احیای این بازهای *Schiff* در مرحله بعدی پیوندهای متقاطع پایداری تشکیل داده و قدرت کششی زیادی ایجاد می‌کند.

اختلالات تغذیه‌ای و وراثتی متعدد در بیوسنتز کلاژن

در این مرحله اهمیت تشکیل پیوندهای متقاطع کووالان را برای تولید کلاژن سالم بهتر از شرح اختلالات تغذیه‌ی و وراثتی در بیوسنتز و تکمیل تروپوکلاژن می‌توان درک کرد. در کمبود شدید ویتامین C آنزیمهای پرولیل و لیزیل هیدروکسیلاز فعالیتی نداشته یا عملکرد ناچیزی دارند. در نتیجه پیوندهای متقاطع کووالان در مولکول تروپوکلاژن تشکیل نمی‌شود. علائم بالینی اسکوروی به صورت از لثه، خونریزی ترمیم نامناسب زخم و نهایتاً مرگ بیمار بارز می‌شود. بیماری *Menkes* که با وجود موی پیچ‌دار و عقب‌افتادگی رشدی مشخص می‌شود ناشی از کمبود مس مورد نیاز برای آنزیم لیزیل اکسیداز در رژیم غذایی است.

با توجه به مسیر طولانی بیوسنتز و کامل شدن ساختمان تروپوکلاژن، در مسیر ساخت کلاژن نمونه‌های متعددی از بیماریهای ژنتیک وجود دارد. اشکال متعدد استئوژنز ناکامل (*Osteogenesis imperfecta*) که علامت بالینی آن به صورت شکنندگی استخوانها است ناشی از نقائص ارثی در ژنهای مختلف بیوسنتز کلاژن است. انواع مختلف سندرم

اهلر ـ دانلس که از لحاظ بالینی با افزایش قابلیت تحرک مفاصل و اختلالات پوستی مشخص می‌شود، ناشی از نقائص ژنهای کد کننده آلفا ـ یک ـ پروکلاژن، پروکلاژن ـ ان ـ پپتیداز یا لیزیل هیدروکسیلاز می‌باشد.

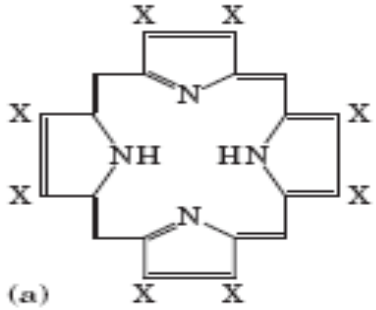
نمونه‌های مختلف ارتباط ساختمان و عمل در مولکولهای کلاژن

کلاژنها حدود ۲۵ درصد کل پروتئینهای پستانداران را تشکیل می‌دهند و به خوبی ارتباط ساختمان و عملکرد را که از ویژگی‌های پروتئینهای رشته‌ای است مشخص می‌نمایند. در حالیکه کلاژن تاندون ساختمان بسیار نامتقارن با قدرت کششی بالا دارد، کلاژن پوست به صورت الیاف قابل انعطاف و در هم پیچیده شل قرار می‌گیرد. برعکس، کلاژن نواحی سخت دندانها و استخوانها حاوی پلیمری از فسفات کلسیم (هیدروکسی آپاتیت) است، اما کلاژن موجود در قرینه چشم دارای چنان ساختمان منظمی است که ویژگیهای آن مشابه مواد بلوری بوده، کاملاً شفاف است.

پروتئینها: میوگلوبین و هموگلوبین

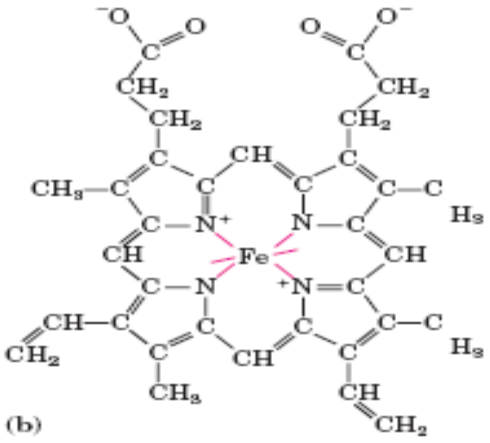
هم و آهن فرو قابلیت ذخیره‌سازی و انتقال اکسیژن را دارند.

گروه الحاقی میوگلوبین و هموگلوبین ترکیبی به نام هم است که یک تتراپیرول (*tetrapyrrole*) حلقوی بوده و قرمز رنگ است. تتراپیرولها چهار مولکول پیرول دارند. که از طریق چهار پل آلفامتیلنی در یک حلقه مسطح به هم وصل شده‌اند.



ساختار ٤ حلقه ایی تتراپیرول

مشتقات ریشه بتا نوع ترکیبی تتراپیرول را به صورت هم یا ترکیب وابسته به آن مشخص می‌کنند. در مولکول هم این گروهها شامل متیل (M)، وینیل (V) و پروپیونات (Pr) می‌باشند که به صورت M, V, M, V, M, Pr, Pr, M قرار دارند. یک اتم آهن فرو (Fe^{2+}) در مرکز این حلقه مسطح قرار دارد. سایر پروتئینهای دارای گروه تتراپیرول الحاقی (و یونهای فلزی وابسته به آنها) عبارتنداز: سیتوکرومها (Fe^{2+} و Fe^{3+})، آنزیمهای کاتالاز و تریپتوفان پیرولاز و کلروفیل (Mg^{2+}). اکسیداسیون و احیا اتم آهن در سیتوکرومها برای عملکرد بیولوژیک آنها ضروری است. در حالیکه، اکسیداسیون Fe^{2+} میوگلوبین یا هموگلوبین فعالیت بیولوژیک آن را از بین می‌برد.



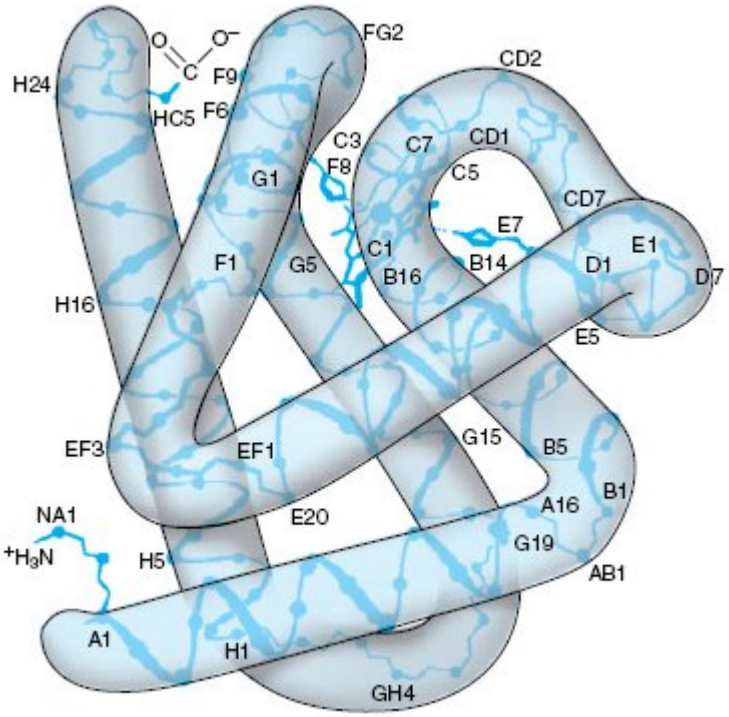
ساختار هم موجود در هموگلوبین و میوگلوبین

اکسی میوگلوبین، اکسیژن را ذخیره می‌کند.

میوگلوبین بافت عضله قرمز اکسیژن را ذخیره می‌کند. در شرایط کمبود اکسیژن (مانند فعالیت شدید) این اکسیژن آزاد می‌شود تا توسط میتوکندریهای عضله جهت سنتز وابسته به اکسیژن ATP مورد استفاده قرار گیرد.

جز در دو مورد، ریشه‌های قطبی در سطح میوگلوبین قرار می‌گیرند.

میوگلوبین که یک زنجیره پلی‌پپتیدی منفرد با وزن مولکولی ۱۷۰۰۰ است از لحاظ ۱۵۳ ریشه اسید آمینه خود مورد استثنایی ندارند. البته نحوه توزیع فضایی این اسیدهای آمینه تفاوتهای بارزی با هم دارد. سطح این مولکول قطبی و بخش درونی آن غیرقطبی است که این طرح مختص پروتئینهای کروی است. ریشه‌هایی که دارای دو ناحیه قطبی و غیرقطبی هستند (مانند ترئونین، تریپتوفان و تیروزین) ناحیه غیرقطبی خود را به سمت داخل قرار می‌دهند. به جز دو ریشه هیستیدین که در اتصال به اکسیژن نقش دارند، بخش درونی میوگلوبین تنها حاوی ریشه‌های غیرقطبی است (مانند لوسین، والین، فنیل آلانین و متیونین).



ساختار میوگلوبین

در میوگلوبین مارپیچهای آلفای فراوانی وجود دارد.

مولکولی میوگلوبین ساختمانی فشرده و نسبتاً کروی دارد که ابعاد آن ۲/۵* ۳/۵ * ۴/۵ نانومتر است. البته شکل فضایی این مولکول تا حدی غیرمعمولی است. حدود ۷۵ درصد ریشه‌های اسید آمینه این مولکول در ۸ مارپیچ آلفای راستگرد قرار دارند که طول این مارپیچها بین ۷ تا ۲۰ ریشه اسید آمینه است. این مارپیچ‌ها را از انتهای N به ترتیب از A تا H می‌نامند. نواحی بین مارپیچ‌ها با دو حرف مارپیچ‌های قبل و بعد از آن مشخص می‌شود. هر ریشه اسید آمینه با حرف مارپیچ مربوطه و عددی که فاصله آن را از انتهای N آن مارپیچ نشان می‌دهد مشخص می‌شود. به عنوان مثال $"His\ F8"$ نشان دهنده ریشه هشتم مارپیچ F است که اسید آمینه هیستیدین می‌باشد.

ممکن است ریشه‌هایی که در ساختمان اولیه فاصله زیادی از هم دارند (مثلاً در مارپیچهایی مختلف قرار دارند) از لحاظ فضایی مجاور یکدیگر باشند مانند ریشه‌های هیستیدین $F8$ (پروگزیمال) و $F7$ (دستال).

ساختمان دوم ـ سوم میوگلوبین در محلول، کاملاً مشابه بلور میوگلوبین است. طیف جذبی نور این دو عملاً یکسان است؛ میوگلوبین بلوری به اکسیژن اتصال می‌یابد؛ و مقدار مارپیچ آلفای موجود در محلول (که از روی پراکندگی

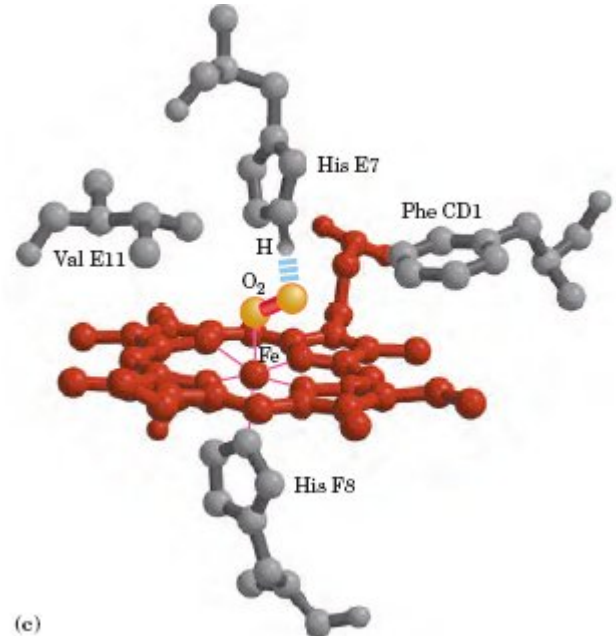
چرخشی نور و دو رنگی حلقوی تخمین زده می‌شود) کاملاً نزدیک به مقادیری است که با کریستالوگرافی با اشعه X به دست می‌آید.

ساختمان اولیه آپومیوگلوبین در حضور هِم نحوه خم شدن صحیح پروتئین را مشخص می‌کند.

زمانی که با کاهش PH تا عدد ۳/۵ آپومیوگلوبین (میوگلوبین فاقد هم) تهیه می‌شود، مقدار مارپیچ‌های آلفای آن به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد. با افزودن اوره، همه مارپیچهای آلفا از بین می‌روند. چنانچه در مرحله بعدی با روش دیالیز اوره را خارج کرده و هم را به ترکیب اضافه کنند، مقدار مارپیچ‌های آلفا به حد کاملاً طبیعی باز می‌گردد و با افزون Fe^{2+} تمام فعالیت بیولوژیک (اتصال به اکسیژن) از سر گرفته می‌شود. بنابراین اطلاعات بالقوه موجود در ساختمان اولیه آپومیوگلوبین در حضور هم، به طور اختصاصی نحوه خمیدگی پروتئین را جهت ایجاد شکل اصلی و فعال آن از نظر بیولوژیک تعیین می‌کند. این مفهوم مهم در مورد پروتئینهای دیگر نیز صادق است: ساختمان اولیه یک پروتئین شکل ساختمان دوم ـ سوم آن را تعیین می‌کند.

هیستیدینهای *F8* و *E7* نقش منحصر به فردی در اتصال به اکسیژن دارند.

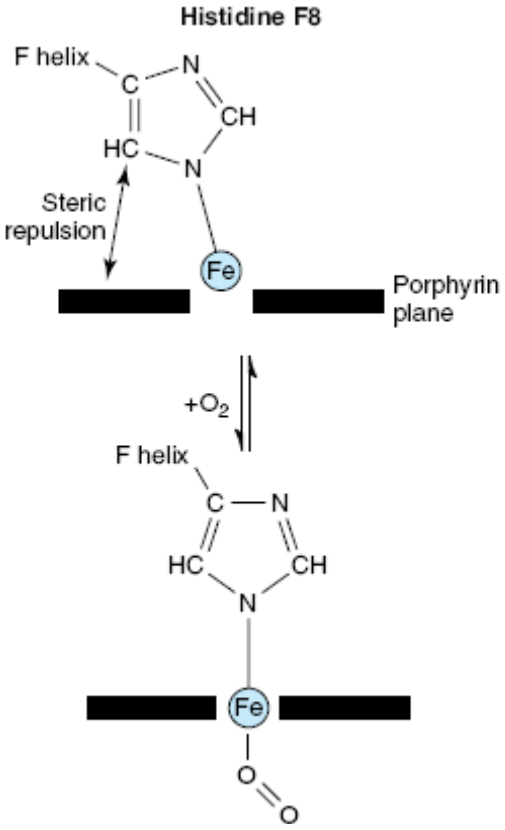
حلقه هم میوگلوبین در شکافی بین مارپیچ‌های E و F قرار دارد، به طوری که گروههای پروپیونات قطبی آن در سطح پروتئین قرار می‌گیرند. بخش غیرقطبی هم در درون پروتئین که عمدتاً غیرقطبی است قرار دارد. موقعیت کرئوردیناسیون پنجم اتم آهن به تیتروژن حلقه هیستیدین پروگزیمال یعنی $His\ F8$ اتصال می‌یابد. هیستیدین دیستال ($His\ E7$) بدون اینکه به موقعیت کوئوردیناسیون ششم آهن اتصال بیابد در کنار $His\ F8$ در مجاورت حلقه هم قرار می‌گیرد.



هنگام اتصال اکسیژن به هم، اتم آهن به طرف صفحه هم حرکت می‌کند.

هنگامی که میوگلوبین فاقد اکسیژن است، آهن هم حدود ۰/۰۳ نانومتر (۰/۳ آنگستروم) خارج از صفحه حلقه هم و در جهت $His\ F8$ قرار می‌گیرد. در میوگلوبین اکسیژن‌دار، یک مولکول اکسیژن در موقعیت کوئور دیناسیون ششم اتم آهن قرار می‌گیرد که تنها حدود ۰/۰۱ نانومتر (۰/۱ آنگستروم) خارج‌تر از صفحه هم قرار دارد. بنابراین اکسیژن‌گیری

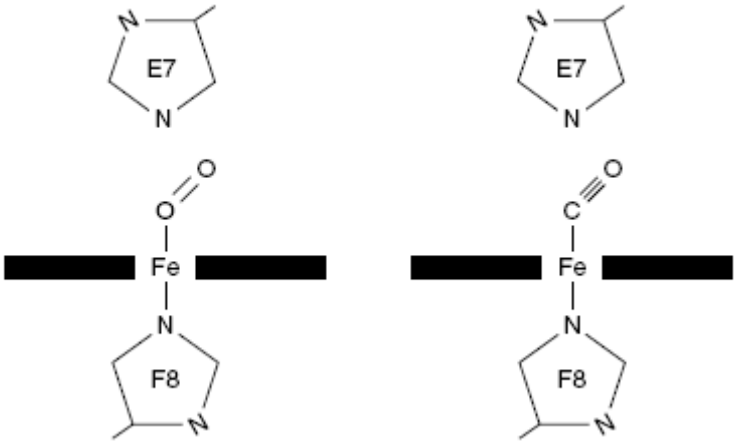
میوگلوبین با حرکت اتم آهن و در نتیجه حرکت $His\ F8$ و ریشه‌هایی که با پیوند کووالان به آن متصل هستند به سمت صفحه حلقه هم همراه است. این حرکت شکل تازه‌ای به بخشهای مختلف پروتئین می‌دهد.



آپومیوگلوبین محیط پوشیده‌ای برای آهن حلقه هم فراهم می‌کند.

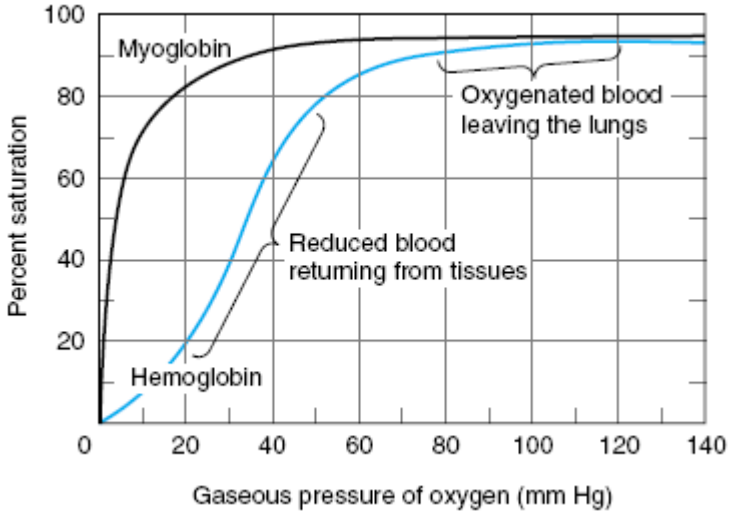
هنگامی که مولکول اکسیژن به میوگلوبین اتصال می‌یابد، پیوند بین اکسیژن و Fe^{2+} بر صفحه حلقه هم عمود است. مولکول دوم اکسیژن با زاویه ۱۲۱ درجه نسبت به صفحه هم و در جهت مقابل هیستیدین دیستال به آن اتصال می‌یابد.

منوکسید کربن (CO) با قدرتی معادل ۲۵ هزار برابر اکسیژن به هم مجزا اتصال می‌یابد. از آنجا که مقادیر کمی CO در جو وجود داشته و از کاتابولیسم طبیعی خود هم نیز مقادیر کمی CO تشکیل می‌شود، چرا CO (به جای O_2) محل کوئوردیناسیون ششم آهن هم را در میوگلوبین اشغال نمی‌کند؟ پاسخ این سؤال در پوشیده بودن محیط هم در ساختمان میوگلوبین است. جهت‌گیری مناسب برای اتصال CO به آهن هم، به صورتی که هر سه اتم آهن، کربن و اکسیژن بر حلقه هم عمود باشند. این حالت در مورد حلقه مجزای هم امکان‌پذیر است، اما در مولکول میوگلوبین هیستیدین دیستال با آرایش فضایی خود مانع اتصال COدر این زاویه می‌شود. این امر باعث می‌شود که شکل مناسبی برای اتصال با CO وجود نداشته باشد و قدرت پیوند هم به CO تا حدود ۲۰۰ برابر پیوند هم با O_2 کاهش یابد. با این همه به طور طبیعی بخش کمی از میوگلوبین (حدود یک درصد) به شکل میوگلوبین ـ CO وجود دارد.



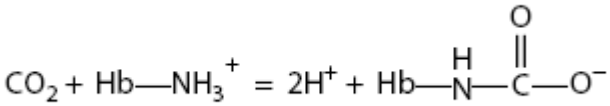
منحنی تجزای اکسیژن مربوط به میوگلوبین و هموگلوبین، نقش فیزیولوژیک آنها را تعیین می‌کند.

چرا میوگلوبین پروتئین مناسبی برای انتقال اکسیژن نیست،اما آن را به خوبی ذخیره می‌کند؟ مقدار اکسیژن متصل به میوگلوبین (که به صورت «درصد اشباع» بیان می‌شود) به غلظت اکسیژن (یعنی PO_2 یا فشار نسبی اکسیژن) در محیط مجاور آهن هم بستگی دارد. ارتباط بین PO_2 و مقدار اکسیژن متصل شده را می‌توان به شکل نمودار منحنی اشباع اکسیژن (یا تجزای اکسیژن) نمایش داد. در مورد میوگلوبین شکل ایزوترم جذب اکسیژن به صورت هذلولی است. از آنجا که مقدار PO_2 در بستر مویرگهای ریه ۱۰۰ میلیمتر جیوه است، میوگلوبین در ریه‌ها به خوبی از اکسیژن اشباع می‌شود، اما PO_2 خون وریدی ۴۰ میلیمتر جیوه و PO_2 عضله فعال ۲۰ میلی‌متر جیوه آزاد کند، وسیله مؤثری برای تحویل اکسیژن از ریه‌های به بافتهای محیطی به شمار نمی‌رود. اما در فعالیت فیزیکی شدید میزان اکسیژن نسوج کاهش یافته و ممکن است PO_2 بافت عضلانی به ۵ میلی‌متر جیوه برسد. در این فشار مولکول میوگلوبین به راحتی اکسیژن متصل به خود را آزاد می‌کند تا برای سنتز اکسیداتیو ATP توسط میتوکندریهای عضله مورد استفاده قرار گیرد.



هموگلوبین، O_2، CO_2 و پروتونهای را حمل و نقل می‌کند.

هموگلوبین گلبول قرمز مهره‌داران دو عمل انتقالی مهم به عهده دارد. (۱) انتقال اکسیژن از دستگاه تنفسی به بافتهای محیطی و (۲) انتقال CO_2 و پروتونها از نسوج محیطی به دستگاه تنفسی برای دفع، هر چند بررسی بیوشیمی مقایسه‌ای هموگلوبین مهره‌داران مطالب جالبی را در بردارد، در اینجا به بررسی هموگلوبین انسان می‌پردازیم.



دفع *CO2* با تولید یون کاربامات

خواص آلوستری هموگلوبینها مربوط به ساختمان چهارم آنها می‌باشد.

مشخصات هر یک سوم از هموگلوبینها مربوط به ساختمان چهارم (و نیز دوم ـ سوم) آنها می‌باشد. ساختمان چهارم هموگلوبین مشخصات اضافی بارزی به آن می‌دهد (که در میوگلوبین وجود ندارد) و آن را برای ایفای نقش بیولوژیک منحصر به فرد خود آماده کرده و تنظیم دقیق خواص آن را میسر می‌سازد. علاوه بر این به کمک مشخصات آلوستری (از واژه‌های یونانی *allos* به معنی «دیگر» و *Steros* به معنی «فضا») هموگلوبین می‌توان مدلی برای شناخت سایر پروتئینهای آلوستری به دست آورد.

هموگلوبین برخلاف میوگلوبین یک تترامر است.

برخلاف میوگلوبین که فاقد ساختمان چهارم است، هموگلوبین پروتئین تترامری است که از دو جفت پلی‌پپتید یا واحد منومری متفاوت (با نامهای آلفا، بتا، گاما، دلتا، S و غیره) ساخته شده است. با اینکه طول کلی پلی‌پپتیدهای آلفا (۱۴۱ ریشه اسید آمینه) و بتا (۱۴۶ ریشه اسید آمینه) مربوط به هموگلوبین A (HbA) مشابه هم است، اما این دو پلی‌پپتید توسط ژنهای متفاوتی کد شده و ساختمان اولیه آنها با هم فرق دارد. برعکس حالت فوق، ساختمان اولیه زنجیره‌های بتا، گاما و دلتای هموگلوبینهای انسان شباهت زیادی به هم دارند. ساختمان تترامری هموگلوبینهای شایع عبارتنداز: HbA (هموگلوبین طبیعی بزرگسالان)= $\alpha_2\beta_2$ HbF (هموگلوبین جنینی)= $\alpha_2\gamma_2$، HbS (هموگلوبین سلول داسی شکل)= α_2S_2 HbA_2 (هموگلوبین فرعی موجود در بزرگسالان)= $\alpha_2\delta_2$.

ساختمان دوم ـ سوم میوگلوبین و زیر واحد بتای هموگلوبین تقریباً یکسان است.

ساختمان دوم ـ سوم میوگلوبین و پلی‌پپتید بتای HbA به رغم وجود تفاوتهایی در نوع و تعداد اسیدهای آمینه، تقریباً مشابه یکدیگر است. این تشابه که جایگاه قرارگیری هم و ۸ ناحیه مارپیچی را در برمی‌گیرد تا حدی ناشی از وجود اسیدهای آمینه با خواص مشابه در نقاط معادلی از ساختمان اولیه این پلی‌پپتیدها است. پلی‌پپتید بتا به رغم داشتن ۷ ناحیه مارپیچی (به جای ۸ ناحیه) شباهت زیادی به میوگلوبین دارد. در هموگلوبین نیز مانند میوگلوبین، ریشه‌های هیدرو فوب به سمت داخل قرار گرفته (به جز دو ریشه هیستیدین در هر زیر واحد) و ریشه‌های هیدروفیل در سطح هر دو زیر واحد آلفا و بتای HbA قرار می‌گیرند.

اکسیژن‌گیری هموگلوبین باعث تغییر شکل آپوپروتئین می‌شود.

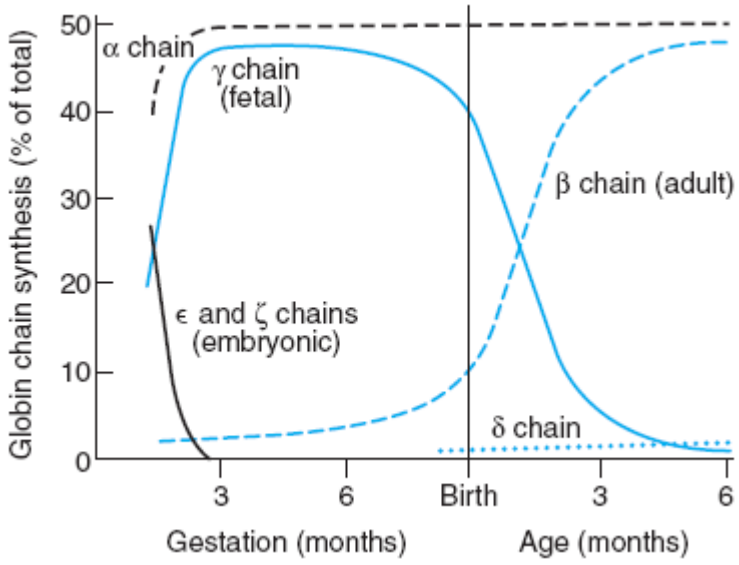
هر ترامرهموگلوبین به چهار مولکول اکسیژن متصل می‌شود (یک مولکول با حلقه هم هر زیر واحد) و منحنی اشباع اکسیژن آن به شکل سیگموئید است. سهولت اتصال اکسیژن به هموگلوبین به حضور مولکولهای دیگر اکسیژن روی همان ترامر بستگی دارد. در صورت وجود اکسیژن، اتصال مولکولهای اکسیژن بعدی با سهولت بیشتری انجام می‌گیرد.

بنابراین هموگلوبین دارای کینتیک اتصال تعاونی (*Coooperative*) می‌باشد و این خاصیت باعث می‌شود که این مولکول در دستگاه تنفسی به حداکثر میزان اکسیژن اتصال یابد و در PO_2 نسوج محیطی حداکثر مقدار اکسیژن را آزاد کند. به عنوان مثال می‌توان این مقادیر را با ارقام مربوط به میوگلوبین در PO_2 ریه انسان (۱۰۰ میلی‌متر جیوه) و بافتهای (۲۰ میلی‌متر جیوه) مقایسه کرد.

مقایسه تمایل نسبی هموگلوبینهای مختلف به اکسیژن توسط P_{50}

P_{50} فشار نسبی اکسیژن است که در آن هموگلوبین به صورت نیمه اشباع است. P_{50} ارگانیسمهای مختلف تفاوت زیادی با هم دارد اما در تمام موارد بیش از PO_2 بافت محیطی در ارگانیسم مورد نظر است. به عنوان نمونه می‌توان به هموگلوبین جنینی انسان (*HbF*) اشاره کرد. در مورد *HbA* ، مقدار P_{50} برابر ۲۶ میلی‌متر جیوه و در مورد *HbF* برابر ۲۰ میلی‌متر جیوه است. این اختلاف باعث می‌شود که *HbF* از *HbA* موجود در خون جفت اکسیژن بگیرد، اما پس از زایمان *HbF* هموگلوبین مناسبی نیست زیرا تمایل شدید آن به اکسیژن باعث می‌شود که اکسیژن کمتری در نسوج محیطی آزاد کند.

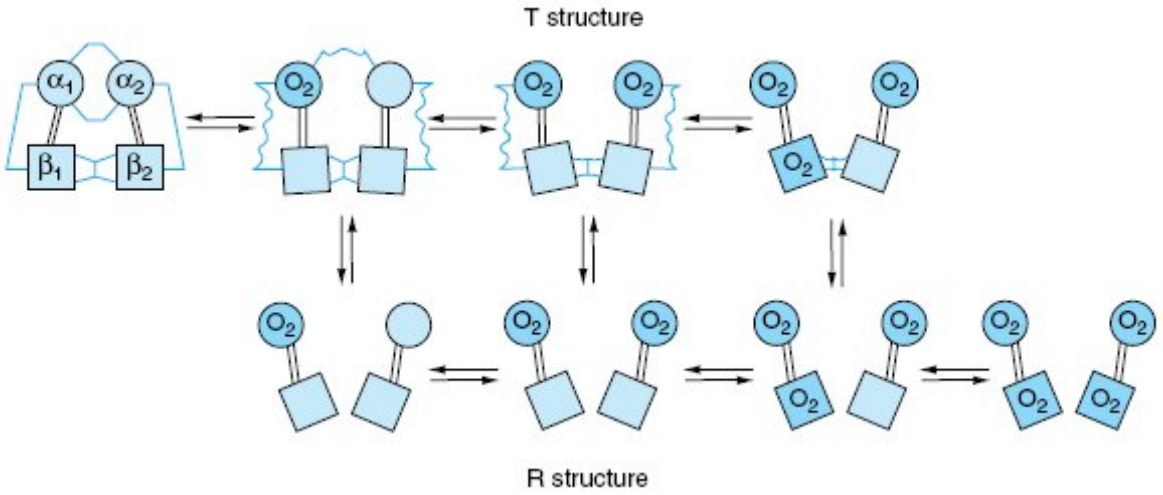
جنین انسان در ابتدا از زنجیره‌های آلفا و بتا را نمی‌سازد. بلکه زنجیره‌های زتا (ζ) و اپسیلون (ε) را سنتز می‌کند. در انتهای سه ماهه اول زندگی جنینی زنجیره آلفا جایگزین زنجیره زتا و زیر واحد گاما جایگزین زیر واحد اپسیلون می‌شود. بنابراین ترکیب هموگلوبین F که هموگلوبین نیمه دوم زندگی جنینی است به صورت $\alpha_2\gamma_2$ می‌باشد. ساخت یر واحدهای بتا که در سه ماهه سوم آغاز می‌شدو تا چند هفته پس از زایمان به طور کامل جایگزین زنجیره گاما نمی‌گردد.



اکسیژن‌گیری هموگلوبین با تغییرات شکلی زیادی همراه است.

در اثر اتصال اکسیژن پیوندهای نمکی بین انتهای کربوکسیل هر چهار زیر واحد از هم می‌گسلد. به این ترتیب اتصال اکسیژن بعدی تسهیل می‌شود زیرا پیوندهای نمکی کمتری باید از هم باز شود. این تغییرات، ساختمان دوم ـ سوم و چهارم هموگلوبین را نیز به طور بارزی عوض می‌کند. یک زوج زیر واحد آلفا/ بتا نسبت به زوج دیگر چرخش پیدا کرده و ساختمان تترامر فشرده شده تمایل اتصال هم به اکسیژن افزایش می‌یابد.

ساختمان چهارم هموگلوبینی که اکسیژن‌گیری نسبی انجام داده وضعیت T (سخت ـ $taut$) و هموگلوبین اکسیژن‌دار را (HbO_2) وضعیت R (شل ـ $relaxed$) می‌نامند. از عبارات R و T برای توصیف ساختمان چهارم آنزیمهای آلوستری نیز استفاده می‌شود و وضعیت T حالتی است که آنزیم تمایل کمتری نسبت به سوبسترا دارد.



تغییرات شکلی ناشی از اکسیژن‌گیری هموگلوبین در مجاورت گروه هم روی می‌دهد.

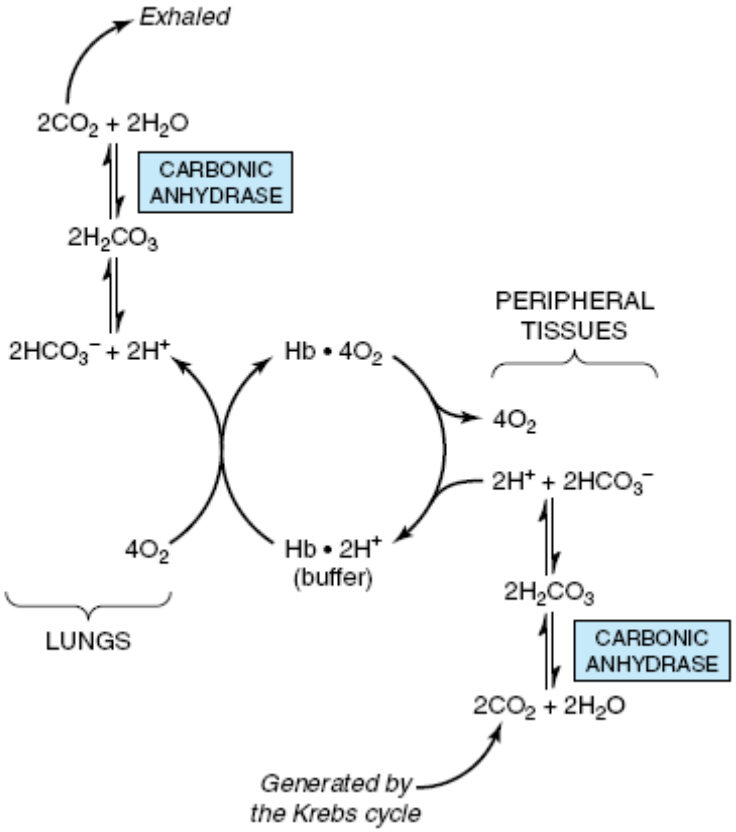
هنگام اکسیژن‌گیری اتمهای آهن دزوکسی هموگلوبین (که حدود ۰/۰۶ نانومتر از صفحه حلقه هم فاصله دارند) به صفحه حلقه هم نزدیک می‌شوند. این حرکت به هیستیدین پروگزیمال ($F8$) و به ریشه‌های متصل به آن منتقل شده و این ترکیبات به صفحه هم نزدیک می‌شوند.

هموگلوبین پس از آزاد کردن اکسیژن در نسوج، دی‌اکسید کربن و پروتونها را به ریه منتقل می‌کند.

هموگلوبین علاوه بر انتقال اکسیژن از ریه‌ها به بافتهای محیطی، انتقال CO_2 را از نسوج به ریه‌ها برای دفع تسهیل می‌کند. هموگلوبین پس از آزاد کردن اکسیژن می‌تواند مستقیماً به CO_2 اتصال یابد و حدود ۱۵ درصد CO_2 موجود در خون به طور مستقیم روی مولکول هموگلوبین منتقل می‌شود. CO_2 با گروه آمین انتهای N هموگلوبین واکنش انجام داده و با ایجاد کربامات پروتون آزاد می‌کند که این پروتونها در اثر $Bohr$ دخالت دارند.

تبدیل انتهای N از حالت دارای بار الکتریکی مثبت به بار منفی باعث تشکیل پلهای نمکی بین زنجیره‌های آلفا و بتا می‌شود. این وضعیت از مشخصات حالت دزوکسی هموگلوبین است. اکسیژن‌گیری هموگلوبین در ریه باعث خارج شدن CO_2 از مولکول و سپس دفع آن می‌شود. با جذب CO_2 در خون آنزیم کربنیک انیدراز موجود در گلبولهای قرمز واکنش تشکیل اسید کربنیک را کاتالیز می‌کنند. اسید کربنیک به سرعت به بیکربنات و یک پروتون تبدیل می‌شود. برای جلوگیری از افزایش میزان اسیدیته خون باید یک سیستم بافری این پروتونهای اضافی را جذب کند. مولکول هموگلوبین به ازای هر چهار مولکول اکسیژن که از دست می‌دهد به دو پروتون اتصال می‌یابد و نقش قابل توجهی در ظرفیت بافری خون به عهده دارد. در ریه واکنشها به صورت معکوس انجام می‌گیرد یعنی با اتصال اکسیژن به هموگلوبین فاقد اکسیژن پروتونها آزاد شده و با ترکیب با بیکربنات، تشکیل اسیدکربنیک می‌دهند. با واسطه عمل آنزیم انیدراز کربنیک، از مولکول اسید کربنیک CO_2 به دست می‌آید که با عمل تنفس دفع می‌شود. بنابراین اتصال اکسیژن باعث دفع CO_2 می‌شود. این فرآیند قابل برگشت اثر $Bohr$ نام دارد. این اثر باعث جابه‌جایی منحنی

اکسیژناسیون به سمت راست می‌شود یعنی میزان اشباع هموگلوبین در فشار نسبی ثابت اکسیژن کاهش می‌یابد. اثر *Bohr* از خواص هموگلوبین تترامری بوده، به کنش متقابل گروههای هم یا اثرات تعاونی آنها بستگی دارد. اثر *Bohr* در میوگلوبین وجود ندارد.



پدیده بور در هموگلوبین

پروتونهای ایجاد کننده اثر *Bohr* از شکستن پیوندهای نمکی طی فرآیند اتصال اکسیژن پدید می‌آیند.

پروتونهای عامل ایجاد اثر *Bohr* در اثر شکستن پلهای نمکی هنگام اتصال اکسیژن به ساختمان T ، پدید می‌آیند. پروتونهای آزاد شده از اتمهای نیتروژن ریشه‌های هیستیدین زنجیره بتا (*HC3-146*) باعث تبدیل بیکربنات به اسید کربنیک می‌شود که این ماده خود به شکل CO_2 در خون آلوئولی آزاد می‌شود. برعکس، هنگام آزاد شدن اکسیژن، ساختمان T و پلهای نمکی آن مجدداً تشکیل شده و پروتونها به ریشه‌های $HC3$ زنجیره بتا متصل می‌شوند. بنابراین پروتونها با پروتونه کردن ریشه هیستیدین انتهایی زیر واحدهای بتا به تشکیل پلهای نمکی کمک می‌کنند. تشکیل مجدد پلهای نمکی آزادسازی اکسیژن را از شکل اکسیژن‌دارز هموگلوبین (شکلR) تسهیل می‌کند. به طور کلی افزایش پروتونها سبب آزاد شدن اکسیژن و افزایش PO_2 باعث آزاد شدن پروتون می‌شود. حالت اول باعث می‌شود که با افزایش غلظت یونهای هیدروژن (پروتونها) منحنی تجزای اکسیژن به سمت راست منحرف شود.

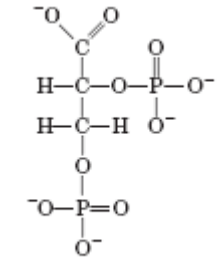
۲ و ۳- بیس فسفوگلیسرات (*BPG*) ساختمان *T* هموگلوبین را تثبیت می‌کند.

کمبود اکسیژن در نسوج محیطی باعث افزایش تجمع ۲ و ۳- بیس فسفوگلیسرات (*BPG*) می‌شود. این ترکیب از ماده واسطه‌ای گلیکولیز یعنی ۱ و ۳- بیس فسفوگلیسرات تشکیل می‌شود. به هر ترامر هموگلوبین یک مولکول *BPG* در

حفره مرکزی تشکیل شده از ۴ زیر واحد اتصال می‌یابد. این حفره تنها در صورتی به اندازه BPG خواهد بود که فضای کافی بین مارپیچ‌های H دو زنجیره بتا وجود داشته باشد، یعنی هموگلوبین در شکل T باشد. BPG به کک پلهای نمکی بین اتمهای اکسیژن و زنجیره‌های بتا از طریق گروههای آمین انتهای N آنها ($Val\ NA1$) و توسط $Lys\ EF6$ و $His\ H21$ اتصال می‌یابد. بنابراین BPG شکل T یا فاقد اکسیژن هموگلوبین را با اتصال متقابل زنجیره‌های بتا و تشکیل پلهای نمکی اضافی تثبیت می‌کند. قبل از تشکیل شکل R باید این پلهای اضافی شکسته شود.

BPG با هموگلوبین جنینی اتصال ضعیف‌تری نسبت به هموگلوبین بالغین بر قرار می‌کند زیرا ریشه $H21$ زنجیره گاما در HbF به جای هیستیدین سرین است و نمی‌تواند با BPG پل نمکی تشکیل دهد. در نتیجه، BPG اثر کمتری در تثبیت شکل T هموگلوبین جنینی دارد و به همین علت به نظر می‌رسد که HbF تمایل بیشتری نسبت به HbA برای اتصال به اکسیژن دارد.

محرک تبدیل شکل R هموگلوبین به شکل T، حرکت اتم آهن به داخل و خارج از صفحه حلقه پورفیرین است. عوامل فضایی و الکتروستاتیک نیز بر این محرک تأثیر می‌گذارند. بنابراین یک تغییر جزئی در موقعیت Fe^{2+} نسبت به حلقه پورفیرین باعث تغییر قابل توجهی در شکل هموگلوبین شده و تأثیر شگرف و مهمی بر عمل بیولوژیک آن در پاسخ به محرکهای محیطی به جا می‌گذارد.



2,3-Bisphosphoglycerate

2,3BPG

وجود صدها هموگلوبین انسانی جهش یافته، مشخص شده است.

موتاسیون ژنهای کد کننده زنجیره آلفا یا بتا به طور بالقوه بر عملکرد بیولوژیک هموگلوبین تأثیر می‌گذارد. از بین صدها هموگلوبین انسانی جهش یافته (که اکثر آنها خوش خیم هستند) چند مورد که عملکرد بیولوژیک آنها نیز تغییر یافته در مطالب بعدی مورد بحث قرار می‌گیرد. حالتی را که عملکرد بیولوژیک هموگلوبین به علت بروز موتاسیون تغییر می‌یابد، هموگلوبینوپاتی می‌نامند.

در هموگلوبین M ، به جای هیستیدین $E8$ یا هیستیدین $F7$ در زیر واحد آلفا یا بتا، اسید آمینه تیروزین قرار می‌گیرد.

در این نوع هموگلوبین آهن هم در وضعیت Fe^{2+} تثبیت می‌شود زیرا کمپلکس یونی محکمی با آنیون فنولات تیروزین تشکیل می‌دهد. متهموگلوبینمی ($Methemoglobinemia$) که در آن آهن هم به جای حالت فرو در وضعیت فریک است، ممکن است اکتسابی (مانند اکسید شدن Fe^{2+} به Fe^{3+} در اثر عواملی مانند سولفونامیدها) ارثی (ناشی از وجود HbM) یا ناشی از کاهش فعالیت آنزیم متهموگلوبین ردوکتاز که Fe^{3+} موجود در $MetHb$ را به Fe^{2+} احیا می‌کند، باشد. چون متهموگلوبین به اکسیژن اتصال نمی‌یابد نمی‌تواند در انتقال آن نقشی داشته باشد. در

انواع زنجیره آلفای هموگلوبین M ، تعادل R-T بیشتر به سمت شکل T تمایل دارد. به این ترتیب تمایل به اتصال اکسیژن کاهش یافته و اثر $Bohr$ وجود ندارد. در نوع زنجیره بتای هموگلوبین M جا به جایی اشکال R-T وجود دارد و در نتیجه اثر $Bohr$ نیز دیده می‌شود.

موتاسیونهایی که (مانند هموگلوبین $Chesapeake$) باعث افزایش شکل R می‌شوند موجب بالا رفتن تمایل اتصال به اکسیژن می‌گردند. در نتیجه اکسیژن کافی در دسترس نسوج محیطی قرار نمی‌گیرد. این هیپوکسی بافتی خود منجر به پلی سیتمی (افزایش تراکم گلبولهای قرمز) می‌شود.

در هموگلوبین S ریشه والین به جای گلوتامات بتا ٦ قرار می‌گیرد.

در هموگلوبین S والین به جای گلوتامات $A2(6)\beta$ یعنی ریشه ششم زنجیره بتا که در سطح هموگلوبین و در معرض آب است، قرار می‌گیرد. این جایگزینی باعث می‌شود که به جای ریشه قطبی گلوتامات یک ریشه غیرقطبی قرار گیرد و «ناحیه چسبناکی ـ $Sticky\ patch$» در سطح زنجیره بتا ایجاد شود. این ناحیه چسبناک در هر دو حالت اکسیژن‌دار و بدون اکسیژن هموگلوبین S وجود دارد. اما در هموگلوبین A دیده نمی‌شود. در سطح هموگلوبین فاقد اکسیژن ناحیه مکمل منطقه چسبناک وجود دارد، اما در هموگلوبین اکسیژن‌دار این ناحیه مکمل پوشیده می‌شود.

هموگلوبین S فاقد اکسیژن رشته‌هایی تشکیل می‌دهد که شکل طبیعی گلبولهای قرمز را تغییر می‌دهد.

هنگامی که هموگلوبین S اکسیژن خود را از دست می‌دهد ناحیه چسبناک به ناحیه مکمل مولکول HbS فاقد اکسیژن دیگری متصل می‌شود. این اتصال موجب پلیمریزه شدن هموگلوبین S فاقد اکسیژن و تشکیل رسوبات رشته‌ای بلند می‌شود و این امر به طور مکانیکی شکل گلبولهای قرمز را تغییر داده (داسی شکل) باعث لیز گلبولی و عوارض بالینی ثانوی متعدد می‌شود. بنابراین اگر HbS در حالت اکسیژن‌دار باقی بماند یا غلظت HbS فاقد اکسیژن به حداقل کاهش می‌یابد، این پلیمرها تشکیل نشده و جلوی «داسی شکل شدن» گلبولهای قرمز گرفته می‌شود. مشخص است که شکل T هموگلوبین S پلیمریزه می‌شود.

هموگلوبین A فاقد اکسیژن دارای نواحی گیرنده برای قطعه چسبناک موجود روی HbS اکسیژن‌دار یا فاقد اکسیژن می‌باشد. اما اتصال هموگلوبین S چسبناک به هموگلوبین A فاقد اکسیژن باعث گسترش پلیمر نمی‌شود زیرا هموگلوبین A دارای ناحیه چسبناک برای اتصال به مولکول هموگلوبین دیگر نیست. بنابراین، اتصال هموگلوبین A فاقد اکسیژن به شکل R یا T هموگلوبین S باعث خاتمه پلیمریزاسیون می‌شود.

این پلیمر ساختمان رشته‌ای مارپیچی شکلی تشکیل می‌دهد به طوری که هر مولکول هموگلوبین در یک مارپیچ لوله‌ای با چهار مولکول مجاور تماس دارد. این رشته‌های لوله‌ای، شکل گلبول قرمز را تغییر داده آنها را به صورت داسی شکل در می‌آورند. این گلبولهای قرمز هنگام عبور از بین سینوزوئیدهای طحال لیز می‌شوند.

تالاسمی‌ها ناشی از کاهش سنتز زنجیره‌های آلفا یا بتا می‌باشند.

در بیماری تالاسمی سنتز زنجیره آلفا (آلفا تالاسمی) یا بتا (بتا تالاسمی) هموگلوبین کاهش یافته است. این امر باعث بروز کمخونی که گاهی شدید است می‌شود.

کاربردهای زیست پزشکی:

میوگلوبینوری: به دنبال ضایعات و تصادفات شدید، میوگلوبین، آزاد شده از رشته‌های عضلانی آسیب دیده در ادرار ظاهر شده و رنگ آن را قرمز تیره می‌کند. به دنبال انفارکتوس میوکارد ممکن است میوگلوبین در پلاسما قابل تشخیص باشد اما بررسی آنزیمهای سرم نشانه حساتری برای آسیب میوکارد است.

کم‌خونی‌ها: کمخونی‌های شایع (کاهش تعداد گلبولهای قرمز یا مقدار هموگلوبین در خون) ناشی از اختلال سنتز هموگلوبین (مانند کمخونی فقر آهن ـ به فصل ۵۹ مراجعه شود) یا اختلال در تولید گلبولهای قرمز (مانند کمبود اسیدفولیک یا ویتامین B_{12} ـ به فصل ۵۲ مراجعه شود) می‌باشد. برای تشخیص کمخونی‌ها میزان هموگلوبین خون با روشهای اندازه‌گیری طیفی مشخص می‌شود. تالاسمی‌ها و کاربرد ابزار (پروب) DNA در تشخیص آنها در فصلهای ۸ و ۴۲ مورد بحث قرار گرفته است.

هموگلوبینو پاتیها: با این که بروز موتاسیون در برخی از ریشه‌های مهم هموگلوبین (مانند هیستیدین $E7$ یا $F8$) عواقب وخیمی در پی دارد، موتاسیون بسیاری از ریشه‌های سطحی که از جایگاه اتصال هم فاصله دارند، ممکن است، هیچ اختلال بالینی ایجاد نکند، یک مورد استثناء مهم مربوط به کم‌خونی سلول داسی شکل است که تمام نشانه‌ها و علایم آن (مانند بحرانهای داسی شدن، ایجاد ترومبوز) ناشی از موتاسیون و تبدیل یک ریشه قطبی منفرد به یک ریشه غیرقطبی است.

هموگلوبین گلیکوزیله (HbA_{1c}): هنگامی که گلوکز خون وارد گلبولهای قرمز شود و هیدروکسیل آنومری (یکی از دو فرم ایزومری قندها) آن گروه آمین ریشه‌های لیزین و انتهای N را به صورت مشتق در آورد. هموگلوبین به طور غیر آنزیمی، گلوکزیله می‌شود به کمک روشهای کروماتوگرافی مبادله یونی یا الکتروفورز می‌توان HbA_{1c} را از HbA جدا کرده نسبت هموگلوبین گلوکوزیله که در حال عادی حدود ۵ درصد است، با غلظت گلوکز خون، متناسب است بنابراین با اندازه‌گیری میزان HbA_{1c} می‌توان اطلاعات مفیدی در زمینه کنترل درمان دیابت قندی به دست آورد. چون نیمه عمر متوسط یک گلبول قرمز ۶۰ روز است، مقدار HbA_{1c} نشانگر مقدار متوسط گلوکز خون در طی ۸-۶ هفته گذشته است. افزایش مقدار HbA_{1c} نشانه کنترل ناکافی میزان گلوکز خون بوده، پزشک می‌تواند درمان مناسب‌تری برای بیمار انتخاب کند (مانند کنترل شدیدتر رژیم غذایی یا افزایش دوز انسولین).

آنزیمها

گیاهان از نور خورشید (به عنوان یک منبع انرژی) استفاده می کنند و از مواد اولیه ، مانند انیدرید کربنیک ، آب ، از ت و مواد معدنی می توانند گلوکز ، نشاسته ، پروتئین ، لیپید و سایر مواد سلولی را تهیه کنند .

گیاهان را می توان به ماشینهای شیمیایی تشبیه کرد که انرژی خورشید را کسب و به صورت مواد شیمیایی ذخیره می کنند . حیوانات با هضم نشاسته ، لیپید و یا پروتئینهای ذخیره شده در گیاهان انرژی شیمیایی موجود در آنها را آزاد و به مصرف رشد ، حرارت ، حرکت ، کار فیزیکی و یا سنتز پروتئینها و مواد لازم دیگر می رسانند .

اعمال شیمیایی که در بافتهای حیوانی صورت می گیرد در دمای ۲۰ تا ۴۰ درجه است و pH محیط نیز در حدود ۷ می باشد ، در حالی که انجام این اعمال در آزمایشگاه تحت شرایط ذکر شده امکانپذیر نیست . به عنوان مثال می توان تبدیل گلوکز به اسیدلاکتیک را به وسیله بعضی از سلولها ذکر کرد .

این تفاوت به علت وجود کاتالیزورهای حیاتی سلولی به نام آنزیم است که کلیه اعمال شیمیایی فوق به کمک آنها صورت می گیرد . آنزیمها ساختمان پروتئینی دارند و به عنوان کاتالیزور عمل می کنند . تاکنون توانسته اند در حدود۸۵ درصد آنها را به صورت متبلور تهیه کنند .

کاتالیزورها

برای اینکه یک واکنش شیمیایی انجام پذیرد باید از نظر اصول ترمودینامیک انجام آن امکان پذیر باشد و مولکولهای شرکت کننده در این واکنش در آغاز به صورت فعال درآیند . به طور کلی از نظر انرژی ، ماده نمی تواند بخودی خود هیچگونه تغییری کند مگر اینکه انرژی آن از یک سطح بالاتر به یک سطح پائین تر تنزل کند . این حالت شبیه سنگی است که خودبخود نمی تواند از پائین تپه به طرف بالا صعود کند در صورتی که همین سنگ می تواند از بالای تپه پائین بیاید و مقداری انرژی آزاد کند .

در واکنشهای شیمیایی علاوه بر تغییرات فوق ، دگرگونیهای انرژی دیگری نیز پدید می آید که به چگونگی تنظیم مولکولها در سیستم بستگی دارد . مثلاً اگر در اثر ورزش باد چندین برگ کاغذ که در لبه میزی قرار دارند به زمین پرتاب شوند دو حالت اتفاق می افتد : در حالت اول اگر این برگها به صورت یک دسته باشند (مانند سنگ بالای تپه) پس از افتادن روی زمین مقداری انرژی از دست می دهد . همین مقدار انرژی باید مجدداً مصرف شود تا ورقها به حالت اول در لبه میز قرار گیرد .

در حالت دوم اگر ورقهای کاغذ به صورت آزاد روی یکدیگر قرار گرفته باشند در اثر وزش باد هر یک به گوشه ای پرتاب می شوند و انرژی لازم برای برگرداندن تمام آنها به شکل اول بیش از حالت قبلی خواهد بود ، زیرا در این حالت بایستی ابتدا برگهای کاغذ را به صورت یک دسته تنظیم کرد که خود مستلزم مصرف مقداری انرژی است . در مثال بالا ، وقتی که برگهای کاغذ پراکنده باشند و کار بیشتری برای آنها لازم باشد ، می گویند که انتروپی (Entropy) سیستم بیشتر است . مجموع تغییرات انرژی آزاد (ΔG) در یک سیستم عبارت است از :

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

در رابطه فوق ΔH عبارت است از تغییرات انرژی آزاد شده به صورت حرارت که آنرا انتالپی (Enthalpy) نیز می گویند . ΔS تغییرات انتروپی و T دمای مطلق است .

در واقع انجام یک واکنش شیمیایی از نظر ترمودینامیک به این انرژی آزاد (ΔG) بستگی دارد . طبق اصول اول و دوم ترمودینامیک $\Delta H = T\Delta S - W'$ که در این رابطه W' برابر با کار مفید است .

در این صورت اگر در یک واکنش شیمیایی (مثلاً در یک واکنش آنزیمی) (ΔG) منفی باشد انرژی آزاد می شود و واکنش انرژی زا نامیده می شود و برعکس چنانچه (ΔG) مثبت باشد برای انجام این واکنش انرژی لازم است و این واکنش را یک واکنش انرژی خواه می گویند.

واحد ΔG مقدار انرژی آزاد شده یا مصرف شده ای است که بر حسب کالری برای هر مولکول گرم جسم در واکنشهای شیمیایی مصرف شود . مثلاً برای تبدیل یک مولکول گرم گلوکز به انیدرید کربنیک و آب ΔG ، برابر با ۶۹۰۰۰۰ کالری است .

باید دانست که اگر واکنشی انرژی زا هم باشد بازهم واکنش خود بخود انجام پذیر نیست ، یعنی قبل از اینکه واکنشی انجام گیرد باید مولکولهای شرکت کننده در واکنش به صورت فعال درآیند (مولکولها را می توان در اثر برخورد با یکدیگر ، حرارت دادن و یا وارد کردن انرژی خارج به صورت فعال درآورد) . در عمل به وسیله حرارت دادن جسم ، مولکولها فعالتر شده و تعداد بیشتری از آنها به سطح انتقالی می رسند . به این ترتیب اگر دمای واکنشی ۱۰ درجه بالا رود سرعت عمل واکنش تقریباً دوبرابر خواهد شد ، پس از آنکه مولکولها به صورت فعال درآمدند سریعاً واکنش انجام شده و انرژی آزاد می شود . مطابق شکل مقدار Ea کالری ، انرژی لازم است تا مولکول A فعال شود و به B تبدیل گردد . Ea را انرژی فعال کننده نیز می گویند . مولکول B پس از تشکیل فوراً به محصول C تبدیل می شود و انرژی خود را به صورت Ea و ΔG آزاد می کند .

انرژی آزاد استاندارد یک واکنش را می توان از ضریب ثابت تعادل (Keq) برابر رابطه زیر به دست آورد :

$$\Delta G^{o} = -RT \ln K_{eq}$$

در واکنش شیمیایی زیر سرعت واکنش به طرف محصول (V_1) بستگی به غلظت A و B دارد و سرعت واکنش در جهت مخالف (V_2) بستگی به غلظت D,C خواهد داشت .

در حالت تعادل این دو سرعت با هم برابر می شوند : V1=V2

تنها اثر کاتالیزور یا واسطه شیمیایی ، کاهش مدت زمان لازم برای رسیدن به حالت تعادل است و یا به عبارت دیگر حالت تعادل را سریعتر برقرار می سازد . کاتالیزور این عمل را با کم کردن مقدار انرژی فعال کننده انجام می دهد و مستقل از انرژی آزاد و ضریب ثابت تعادل عمل می کند . بنابراین یک مولکول کاتالیزور ممکن است به تنهایی هزارها مولکول جسم را فعال کند . معیار فعالیت کاتالیزورها را با میزان نوسازی یا T.O.N نشان می دهند و بر حسب تعریف میزان نوسازی عبارت است از مقدار مولکول گرم از جسم (سوبسترا) که به وسیله یک مولکول گرم کاتالیزور در یک مدت زمان معین به محصول واکنش تبدیل می شود .

نامگذاری و طبقه بندی آنزیمها

آنزیمها را برحسب واکنشی که انجام می دهند نامگذاری و طبقه بندی می کنند . برای نامگذاری یک آنزیم فقط کلمه آز (ase-) را به آخر نام سوبسترا که آنزیم بر آن اثر می کند اضافه می کنند ، مانند اوره آز ، آرژیناز ، فسفاتاز و غیره .

بعضی آنزیمها هنوز با نامگذاری قدیمی ذکر می شوند مانند تریپسین ، پپسین و غیره . طبق پیشنهاد کمیته آنزیم شناسی اتحادیه بین المللی بیوشیمی ، آنزیمها به ۶ گروه تقسیم می شوند . این طبقه بندی به نوع واکنشی که آنزیمها انجام می دهند بستگی دارد و شبیه تقسیم بندی قدیمی است ولی نامگذاری آن متفاوت است .

در این کتاب از نامگذاری معمولی آنزیمها استفاده می شود و طبقه بندی جدید هم به علت آنکه نوع واکنشها را روشن می سازد ، ذکر می شود . باید در نظر داشت که در طبقه بندی جدید بعضی آنزیمها با نام دیگری ذکر شده اند ، مانند اکسیدوردوکتاز (Oxidoreductase) که قبلاً آنرا دهیدروژناز (Dehydrogenase) می نامیدند .

تقسیم بندی جدید آنزیمها عبارت است از :

۱.اکسیدوردوکتاز (Oxidoreductases)

این گروه آنزیمها واکنشهای اکسیداسیون و احیا را کاتالیز می کنند و عبارتند از : دهیدروژنازها ، اکسیدازها ، پراکسیدازها .

۲. ترانسفرازها (Transferases) این آنزیمها انتقال یک گروه را از ماده ای به جسم دیگر کاتالیز می کنند .

از این گروه می توان کینازها (Kinases) را که گروه فسفره را از ATP به جسم دیگری منتقل می سازند و ترانس آمینازها (transaminases) را که انتقال گروههای آمینه را به عهده دارند ، نام برد .

۳. هیدرولازها (Hydrolases) این آنزیمها اجسام مختلف را هیدرولیز می کنند و عبارتند از : آنزیمهای پروتئولیتیک ، لیپازها (Lipases) ، آمیلازها (Amylases) و غیره.

٤. لی آزها (Lyases) این آنزیمها گروههای بخصوصی را بدون عمل هیدرولیز برداشت کرده و تشکیل پیوند دوگانه می دهند و یا اینکه گروههای دیگری را به پیوند دوگانه اضافه می کنند . از جمله این آنزیمها می توان دکربوکسیلازها (Decarboxylases) و آلدولازها (aldolases) را نام برد .

۵. ایزومرازها (Isomerases)

این آنزیمها ایزومری سیس (cis) و ترانس (trans) ، اپیمریزاسیون (Epimerization) ، راسمیزاسیون (Racemization) و نقل و انتقالات درونی و یا بیرونی یک مولکول را کاتالیز می کنند .

٦. لیگازها (Ligases) این آنزیمها با شکستن یک پیوند پیروفسفات اتصال دو جسم را به یکدیگر کاتالیز می کنند .

هر یک از این گروهها به دسته های دیگری تقسیم بندی می شوند که می توان آنها را در منابع مربوط به آنزیمها پیدا کرد .

خواص شیمیایی آنزیمها

تعداد زیادی از آنزیمها را به صورت متبلور جدا کرده اند . آنزیمها دارای ساختمان پروتئینی می باشند و بیشتر آنها از نوع پروتئینهای توأم هستند و در ساختمان آنها یک فلز یا یک قسمت غیرپروتئینی نیز وجود دارد . تا کنون مطالعات زیادی درباره آنزیمها و ساختمان درونی آنها به عمل آمده و در این باره اطلاعات مفیدی به دست آورده اند ، مثلاً انواع اسیدهای آمینه و توالی آنها و همچنین گروههای موجود در آنزیم ریبونو کلئاز (Ribonuclease) و چندین آنزیم دیگر را تعیین کرده اند ، در این قسمت خواص مشترک آنزیمها مورد بررسی قرار می گیرد .

۱. اندازه گیری فعالیت آنزیمها

برای اندازه گیری فعالیت یک آنزیم ابتدا آنرا با جسمی که آنزیم بر آن اثر می کند (ماده اولیه یا سوبسترا) مخلوط کرده ، در یک دمای معین برای مدت کوتاهی قرار می دهند (این عمل را انکوباسیون incubation می نامند) و سپس مقداری از مخلوط را برداشته و تجزیه می کنند . معمولاً اندازه گیری محصول دقیقتر از اندازه گیری سوبسترا می باشد ، زیرا در اغلب اوقات غلظت سوبسترا در محیط واکنش خیلی زیاد است .

به عنوان مثال می توان هیدرولیز نشاسته توسط آمیلاز را ذکر کرد . در عمل می توان برای تشخیص فعالیت این

به عنوان مثال می توان هیدرولیز نشاسته توسط آمیلاز را ذکر کرد . در عمل می توان برای تشخیص فعالیت این آنزیم از اندازه گیری قند احیا کننده حاصل از هیدرولیز نشاسته و یا نشاسته باقیمانده استفاده کرد . همچنین هیدرولیز آنزیمی یک پروتئین را می توان با آزمایش بیوره و یا با اندازه گیری مقدار اسیدهای آمینه (روش وان سلایک) و یا با آزمایش نین هیدرین دنبال کرد و منحنی تغییرات آن را بر حسب زمان به دست آورد .

در واکنشهای آنزیمی به طور کلی سرعت واکنش با کم شدن غلظت سوبسترا تدریجاً کاهش می یابد . این کاهش ممکن است به علت تغییرات pH و یا تشکیل محصول واکنش باشد که عمل آنزیم را خودبخود منع می کند ، بنابراین شرایط آزمایش را باید طوری انتخاب کرد که این عوامل در سرعت واکنش بی اثر باشند . در غیر این صورت باید واکنش در یک مدت زمان بسیار کوتاه انجام شود تا عوامل فوق در عمل بی تأثیر باشند و سرعت تعیین شده همان سرعت آنی واکنش باشد .

متداول ترین تعریف برای واحد اندازه گیری فعالیت یک آنزیم عبارت از مقدار آنزیمی است که بتواند در یک دقیقه یک میکرومول (μmol ۱ یا 10^{-6} mol) سوبسترا را در ۲۵ درجه سانتی گراد تحت شرایط مطلوب به محصول تبدیل کند . اصطلاحاً این مقدار آنزیم را یک واحد بین المللی (.I.U) می نامند . فعالیت ویژه یک آنزیم عبارت است از فعالیتی که یک میلی گرم آن آنزیم در شرایط مطلوب از خود نشان دهد .

مولار (molar) یا فعالیت مولکولی که قبلاً به نام میزان نوسازی و یا T.O.N شناخته شده بود عبارت از تعداد مولکول سوبسترایی است که در یک قیقه توسط یک مولکول آنزیم (یا نقطه فعال از آنزیم) به محصول تبدیل می شود .

یک واحد جدید که برای اندازه گیری فعالیت آنزیمها توسط کمیته بین المللی آنزیمها پیشنهاد شده است کاتال (Katal) یا به طور خلاصه کات (Kat) می باشد که عبارت است از مقدار فعالیت آنزیمی که بتواند یک مول سوبسترا را در یک ثانیه (١ mol/s) به محصول تبدیل کند.

٢. اثر حرارت

فعالیت آنزیم رابطه مستقیم با افزایش دما دارد ، بدین معنی که افزایش دما سب افزایش سرعت واکنش می شود . با توجه به ساختمان پروتئینی آنزیمها و اثر مخرب حرارت بر آن ، این افزایش تا حد معینی (حرارت مطلوب) ادامه می یابد و پس از آن اثر معکوس دارد به حدی که در اثر تقلیب کامل آنزیم فعالیت آن به حداقل کاهش می یابد . فعالیت هر آنزیم در یک دمای معین در حد ماگزیمم است . این دمای مناسب را دمای مطلوب نیز می گویند .

٣. اثر pH

آنزیمها در حد معینی از pH آنزیم حداکثر فعالیت خود را نشان می دهد . اگر یک آنزیم بر روی دو سوبسترای مختلف اثر کند pH مطلوب آنزیم برحسب نوع سوبسترا متفاوت خواهد بود . مثلاً برای پپسین pH مطلوب بین ١/٥ ٢/٥ می باشد و بستگی به نوع پروتئینی دارد که پپسین بر آن اثر می کند .

pH مطلوب برای بیشتر آنزیمها بین ٥-٧است وغالباً در این pH آنزیمها از نظر ساختمانی ثابت و فعالتر می باشند .

٤. اثر سوبسترا

در شرایط مناسب (حرارت و pH مطلوب) سرعت واکنش آنزیمی به غلظت سوبسترا بستگی دارد . در شرایطی که غلظت آنزیم ثابت نگه داشته شود با افزودن مقدار سوبسترا سرعت واکنش نیز افزایش می یابد و این عمل تا حد معینی ادامه پیدا می کند . پس از آن ، افزودن سوبسترا تغییری در این سرعت بوجود نمی آورد . این سرعت را سرعت ماکزیمم (V_{max}) یا حداکثر سرعت آنزیم در آن شرایط می داند .

سینیتیک واکنشهای آنزیمی

١. **معادله میکالیس ـ منتون** میکالیس و منتون یک واکنش آنزیمی را با معادله زیر نشان می دهند :

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} ES \xrightarrow{k_2} E + P$$

در این رابطه :

[E] = غلظت تام آنزیم

[S] = غلظت تام سوبسترا

[ES] = غلظت مجموعه آنزیم ـ سوبسترا

[E] –[ES] = غلظت آنزیم آزاد یا آنزیم ترکیب نشده .

میکالیس و منتون فرض کردند که سرعت تبدیل سوبسترا به محصول ، به سرعت تجزیه مجموعه آنزیم ـ سوبسترا بستگی دارد .

در شکل در غلظت کم سوبسترا (قسمت تحتانی منحنی) واکنش از نوع واکنش درجه اول است . بنابراین سرعت واکنش به غلظت آنزیم و غلظت سوبسترا بستگی خواهد داشت .

اگر غلظت سوبسترا تدریجاً زیاد شود سرعت واکنش نیز به یک حد ماگزیمم می رسد در این حالت آنزیم کاملاً با سوبسترا ترکیب می شود و تشکیل مجموعه آنزیم ـ سوبسترا را می دهد ، به طوری که غلظت آنزیم با غلظت مجموعه آنزیم ـ سوبسترا برابر می شود و در این حالت سرعت واکنش (سرعت حداکثر) به غلظت آنزیم بستگی خواهد داشت .بر حسب معادله میکالیس ـ منتون سرعت تشکیل مجموعه یا کمپلکس آنزیم ـ سوبسترا برابر معادله زیر است :

$$\text{Rate of ES formation} = k_1([E_t] - [ES])[S]$$

نظر به اینکه سرعت تشکیل [ES] مستقیماً به غلظت سوبسترا و آنزیم آزاد بستگی دارد در این صورت سرعت تجزیه [ES] طبق معادله زیر انجام می گیرد .

$$\text{Rate of ES breakdown} = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$$

در حالت تعادل سرعت تشکیل [ES] برابر با سرعت تجزیه شدن آن است :

$$k_1([E_t] - [ES])[S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$$

با استفاده از عدد ثابت میکالیس (K_m) می توان مقدار [ES] را از معادله فوق به ترتیب زیر به دست آورد :

$$K_m = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_1}$$

$$[ES] = \frac{k_1[E_t][S]}{k_1[S] + k_{-1} + k_2}$$

سرعت اولیه یک واکنش (V) به غلظت [ES] بستگی دارد .

هرگاه غلظت سوبسترا از غلظت آنزیم بیشتر باشد تمام آنزیم به صورت [ES] در می آید و سرعت واکنش ، ماکزیمم (V_{max}) می شود و در نتیجه :

$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

معادله میکالیس ـ منتون به دست می آید .

مطابق معادله فوق اگر سرعت واکنش برابر نصف سرعت ماکزیمم یا $V = \frac{V_{max}}{2}$ باشد ، $K_m = [S]$ خواهد بود و یا به عبارت دیگر میزان K_m برابر آن مقداری از غلظت سوبسترا است که در این غلظت نیمی از نقاط فعال آنزیم توسط سوبسترا اشغال شده باشد و واحد آن نیز مولکول گرم در لیتر است . K_m عددی است ثابت و تجربی که می توان آنرا با انجام آزمایشهای متفاوت و در غلظتهای مختلف سوبسترا به دست آورد .

در این صورت K_m تقریباً برابر با عدد ثابت تجزا برای مجموعه آنزیم ـ سوبسترا خواهد بود ، که به نام عدد ثابت سوبسترا یا K_s نامیده می شود .

K_m نموداری از نیروی پیوند دهنده E با S در مجموعه ES است و به همین سبب یک K_m بزرگ دلیل بر یک پیوند ضعیف و یک K_m کوچک نشانه یک اتصال قوی در مجموعه آنزیم سوبسترا [ES] بشمار می رود .

میزان K_m برای هر آنزیم و سوبسترا مقدار ثابتی است که به غلظت آنزیم بستگی ندارد و برای بیشتر آنزیمها بین ۱-۱۰ و ۶-۱۰ مول است .

باید دانست که چنانچه یک آنزیم بر روی سوبستراهای مختلف اثر کند مقدار K_m برای هر سوبسترا متفاوت خواهد بود .

۲. محاسبه K_m و V_{max}

مقدار K_m و V_{max} یا حداکثر سرعت واکنش یک آنزیم را می توان بسادگی محاسبه کرد . در ابتدا واکنش آنزیمی را با غلظتهای مختلف سوبسترا انجام می دهیم و منحنی حاصل از اندازه گیری سرعت اولیه واکنش در غلظتهای متفاوت سوبسترا را رسم می کنیم ، سپس از روی منحنی مقدار K_m و V_{max} را محاسبه می کنیم .

راه دیگری نیز برای محاسبه K_m و V_{max} وجود دارد بدین ترتیب که می توان معادله میکالیس ـ منتون را معکوس کرد تا معادله لینویر ـ برک حاصل شود :

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{max}[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

حال اگر واکنش آنزیمی را در غلظتهای مختلف سوبسترا انجام داده و مقادیر $\frac{1}{v}$ را روی محور عمودی و $\frac{1}{[S]}$ را روی محور افقی قرار دهیم یک خط مستقیم به دست می آید که شیب آن $\frac{K_m}{V_{max}}$ و محل تقاطع آن با محور عمودی $\frac{1}{V_{max}}$ است و اگر خط را ادامه دهیم تا محور افقی $\frac{1}{[S]}$ را در طرف مخالف محور مزبور قطع کند $-\frac{1}{K_m}$ به دست خواهد آمد .

اگر هر دو طرف معادله لینویور ـ برک را در V_{max} ضرب کنیم شکل دیگری از معادله میکالیس ـ منتون به دست می آید :

حال اگر V را روی محور عمودی و $\frac{V}{[S]}$ را روی محور افقی قرار دهیم یک خط مستقیم به دست می آید که منحنی ادی هافستی نامیده می شود . با رسم این منحنی نه تنها می توان K_m و V_{max} را به آسانی به دست آورد بلکه با مشکلات منحنی لینویور ـ برک نیز مواجه نخواهیم بود .

سرعت حداکثر یا ماکزیمم در واقع بین .T.O.N یک آنزیم است ، در این صورت اگر تعداد نقاط فعال $[E_T]$ یک آنزیم شناخته شده باشد سرعت ماکزیمم برابر خواهد بود با :

مثلاً یک محلول ۶-۱۰ مولار آنزیم انیدرازکربنیک به شرطی که تمام نقاط فعال آن با سوبسترا اشباع شده باشد در هر ثانیه ۱-۱۰*۶ مول اسید کربنیک (H_2CO_3) تولید می کند . در این صورت K_3 برای این آنزیم ۱۰۵ *۶ در ثانیه

خواهد بود . بدین ترتیب عدد ثابت K_3 همان .T.O.N نامیده می شود و بنا بر تعریفی که قبلاً در این مورد بعمل آمده .T.O.N یک آنزیم ، در حالی که آنزیم کاملاً با سوبسترا اشباع شده باشد عبارت از تعداد مولکولهایی از سوبستراست که در واحد زمان (ثانیه) به محصول تبدیل می شود .

۳. سینتیک آنزیمی آنزیمهای دارای دوسوبسترا یا بیشتر

باید دانست که بیشتر آنزیمها دارای بیش از یک سوبسترا هستند .در این نوع واکنشها نیز مجموعه آنزیم ـ سوبسترا [ES] تشکیل می شود و با مطالعه سینتیک این نوع آنزیمها می توان K_m را برای هر یک از سوبستراها و V_{max} را برای تمام واکنش تعیین کرد . برای تعیین K_m غلظت یکی از سوبستراها را تغییر می دهند و غلظت سوبسترای دوم را در حد اشباع ثابت نگه می دارند و در این صورت با رسم منحنی واکنش با یکی از روشهای مذکور می توان K_m را محاسبه کرد .

معادلات سینتیک آنزیمی که دارای دوسوبسترا یا بیشتر هستند شبیه معادله میکالیس ـ منتون است و از این راه اطلاعات زیادی در مورد چگونگی عمل اینگونه آنزیمها به دست آمده است . باید توجه داشت که این رابطه ها بسیار پیچیده و خارج از این بحث مختصر است ، با این وجود شرح کوتاهی درباره اینگونه واکنشها مفید به نظر رسیده و به درک چگونگی انجام آنها کمک فراوانی خواهد کرد .

این واکنشها بر دو نوع اند :

۱. واکنشهایی که فقط با دو بار جابجایی انجام می گیرند .
۲. واکنشهایی که با جابجایی های پی در پی انجام می پذیرند .

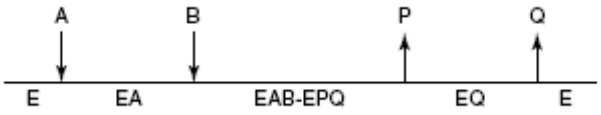
در اولین مرحله واکنشهایی که با دو بار جابجایی انجام می پذیرند $A+B \xleftrightarrow{E} C+D$ سوبسترای اول (A) با آنزیم ترکیب شده تولید مجموعه آنزیم ـ سوبسترا (EA) را می کند که پس از تجزیه این مجموعه (EA) محصول (C) آزاد و جسم واسط (F) نیز به وجود می آید . جسم واسط (F) با آنزیم (E) متفاوت ولی می تواند با دومین سوبسترا (B) ترکیب و مجموعه آنزیم ـ سوبسترای (FB) را تولید کند . مجموعه واسط (FB) نیز تجزیه شده و محصول (D) و آنزیم (E) را آزاد می کند . مجموعه واکنشهای فوق را می توان به طور اختصار به صورت زیر نشان داد :

در طرح فوق B,A سوبسترا ، D,C محصولات واکنش ، E آنزیم و F جسم ثابت واسط می باشد . این نحوه عمل را مکانیزم پینگ پونگی می نامند .

واکنش ترانس آمیناسیون که به وسیله آنزیم گلوتامیک ـ آسپارتیک آمینوترانسفراز کاتالیز می شود نمونه بارزی از این نوع مکانیزم است .

در واکنشهایی که جابجا شدن پی در پی انجام می پذیرند نحوه عمل به دو صورت زیر می باشد :

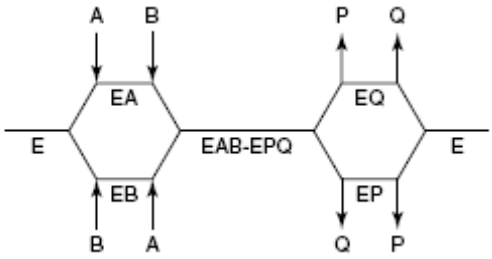
الف) مکانیزم مرتب ـ در این مکانیزم برخلاف مکانیزم پینگ پونگی همه سوبستراها باید به ترتیب با آنزیم ترکیب شوند و یک مجموعه مشترک به وجود آورند :



در واکنشهای فوق سوبسترای A با آنزیم ترکیب می شود و مجموعه EA را به وجود می آورد که به نوبه خود با سوبسترای دوم B ترکیب و مجموعه مشترک EAB را تولید می کند و این مجموعه نیز به ترتیب و به طوری که در بالا نشان داده شده است تجزیه و محصولات واکنش را ازاد می کند . واکنشهای آنزیمی که توسط آنزیمهای فسفوفروکتوکیناز و گلیسرالدئید -۳- فسفات دهیدروژناز کاتالیز می شوند نمونه های خوبی از این نوع مکانیزم هستند .

ب) مکانیزم اتفاقی ـ در بعضی موارد آنزیم E دارای نقاط فعال جداگانه ای برای پیوند شدن هر یک از سوبستراها مانند B,A است . در این صورت سرعت واکنش صرفنظر از این که سوبسترای A و یا B کدامیک زودتر به آنزیم متصل شوند تغییری نمی کند . یک چنین نحوه عمل را مکانیزم اتفاقی یا بی ترتیب می نامند .

در صورتی که هنگام آزاد شدن محصولات D,C ترتیب خاصی وجود نداشته باشد چگونگی واکنش را می توان به صورت زیر مجسم کرد :



از آنزیمهایی که یک چنین واکنشی را کاتالیز می کنند می توان UDP– گالاکتوز : ان ـ استیل گلوکزآمین گالاکتوسیل ترانسفراز و کرآتین کیناز را نام برد .

سینتیک آنزیمی پیچیده تری که شامل سه و یا حتی چهار سوبسترا باشند نیز شناخته شده است که ممکن است دارای مکانیزم پی در پی یا متوالی ، پینگ پونگی و یا مجموعه ای از این دو باشند که در این صورت سینتیک آنها بسیار پیچیده است .

عوامل مهار کننده آنزیمها

سرعت واکنش آنزیمی را می توان توسط مهار کننده های ویژه ای کاهش داد . نحوه عمل این مواد به طور کلی بدین ترتیب است که در اثر ترکیب با آنزیم مانع پیوند سوبسترا به نقاط فعال آنزیم و در نتیجه مانع فعالیت طبیعی آنزیم می شوند . اثرات سمی سیانورها ، هیدروژن سولفوره و منواکسید کربن برای انسان و حیوانات را بر همین اساس تفسیر می کنند ، به این ترتیب که مصرف این مواد از فعالیت بسیاری از آنزیمهای بدن جلوگیری کرده سبب مرگ حیوان می شوند .

تعداد زیادی از داروها نیز در ردیف مهار کننده های واکنشهای متابولیکی محسوب می شوند و درک چگونگی اثر د اروها (فارماکولوژی مولکولی) نیز به شناسایی عمل این منع کننده ها بستگی دارد . بسیاری از اطلاعات با ارزش در مورد چگونگی عمل آنزیمها ، تغییر شکل فضایی و نقاط فعال آنزیمها نیز از همین راه به دست آمده اند .

به طور کلی مهار کننده ها را به دو گروه اصلی ، مهارکننده های برگشت پذیر و دیگری مهارکننده های برگشت ناپذیر ، تقسیم بندی می کنند :

۱. مهارکننده های برگشت پذیر تا کنون سه نوع مهار کننده برگشت پذیر تشیخص داده شده است که عبارتند از :

الف) مهارکننده های رقابتی

ب) مهارکننده های غیر رقابتی

ج) مهارکننده های غیرقابل رقابت یا رقابت ناپذیر

الف ـ مهارکننده های رقابتی ـ مهارکننده رقابتی از نظر ساختمان شیمیایی شباهت زیادی به سوبسترا دارد و در اشغال نقطه فعال آنزیم در یک واکنش دو جانبه با سوبسترا به رقابت برمی خیزد .

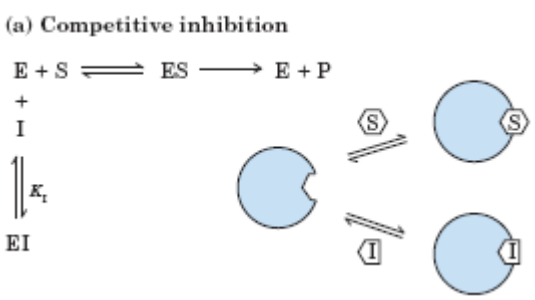
در این واکنش به علت تشکیل مجموعه آنزیم ـ مهار کننده (EI) ، نقطه فعال آنزیم توسط مهار کننده I اشغال می شود ولی این مجموعه نمی تواند به محصول واکنش تبدیل شود و لذا یک منع کننده رقابتی یا بی اثر نمودن تعدادی از مولکولهای آنزیم در مخلوط ، به طور غیرمستقیم از تعداد مولکولهای ES کاسته و در نتیجه میزان عمل کاتالیزوری آنزیم را کاهش می دهد . با در نظر گرفتن معادله میکالیس ـ منتون می توانیم ثابت تجزا (K_i) برای مهارکننده را محاسبه کنیم .

$$K_I = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

در این حالت تشکیل مجموعه EI به غلظت مهار کننده [I] بستگی دارد و سرعت انجام یک چنین واکنشی در یک غلظت معین از آنزیم [E] ، با غلظت نسبی مهار کننده [I] و سوبسترا [S] هر دو مرتبط خواهد بود . در این مورد می توان واکنش سوکسینیک دهیدروژناز را نام برد.

برخی از مواد آلی که ساختمان شیمیایی آنها با اسید سوکسینیک شباهت دارد ولی قادر به از دست دادن هیدروژن نیستند می توانند با این آنزیم ترکیب شوند و با مسدود کردن نقطه فعال آن مانع عمل طبیعی آنزیم شوند . از این گروه می توان اسیدهای مالونیک ، اگزالیک ، گلوتاریک و فنیل پروپیونیک را ذکر کرد . از اجسام مذکور اسید مالونیک از مواد دیگر قوی تر است و قادر است با غلظت $\frac{1}{50}$ ، به میزان پنجاه درصد فعالیت طبیعی آنزیم را کاهش دهد . فعالیت آنزیم را می توان با اضافه کردن سوبسترا و یا کم کردن غلظت مهار کننده افزایش داد . منع کننده های رقابتی را می توان با در نظر گرفتن سینتیک آنها و با رسم منحنی لینویور ـ برک از یکدیگر تفکیک کرد . برای انجام این منظور واکنش را در غلظتهای مختلف منع کننده $[I]_0,[I]_1,[I]_2$ انجام می دهیم و منحنی هر یک از این غلظتها را رسم می کنیم . باید دانست که منحنی تمام این واکنشها به صورت یک خط مستقیم است و در یک نقطه محور $\frac{1}{V}$ را قطع می کنند .

در این صورت شاهد این نکته خواهیم بود که وجود یک منع کننده رقابتی در محیط واکنش سبب ازدیاد K_m برای سوبسترا خواهد شد و یا به عبارت دیگر غلظت زیادتری از سوبسترا لازم است تا حداکثر سرعت واکنش حاصل شود .

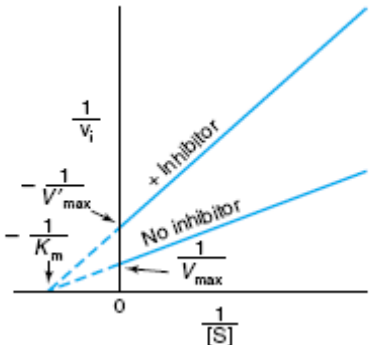


$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{\alpha K_m + [S]}$$

$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_I}$$

ب) مهارکننده های غیررقابتی ـ در این نوع مهار کننده ها هیچ رابطه ای بین درجه مهارکنندگی و غلظت سوبسترا وجود ندارد و قدرت ممانعت از انجام واکنش فقط به غلظت مهار کننده بستگی خواهد داشت . برخلاف مهار کننده های رقابتی در اینجا می توان تصور کرد که تشکیل مجموعه EI در نقطه ای غیر از نقطه اتصال سوبسترا انجام می گیرد و در نتیجه سبب تغییر شکل فضایی آنزیم می شود و بدین ترتیب از ترکیب سوبسترا با آنزیم و تولید مجموعه آنزیم ـ سوبسترا جلوگیری می کند و ES نمی تواند با سرعت طبیعی تشکیل شود و در صورت تشکیل نیز تا حدودی مهار کننده با آن ترکیب شده و مانع تجزیه شدن آن به محصول می شود .

رابطه لینویور ـ برک در این صورت به شکل زیر در خواهد آمد :



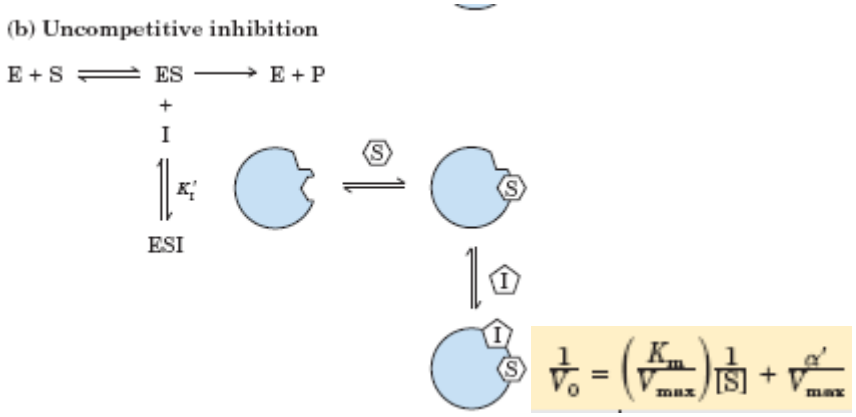
.

از مهار کننده های غیررقابتی می توان فلزات سنگین مانند Ag^{+}, Hg^{2+} و Pb^{2+} را نام برد که می توانند به طور قابل برگشت با گروه تیول (SH-) و یا گروههای دیگر از آنزیم که توانایی پیوند با فلزات (Chelation) را داشته باشند ترکیب شوند .

برخی از مواد شیمیایی می توانند به طور غیرقابل برگشت با آنزیم ترکیب شده و ترکیباتی با پیوندهای اشتراکی به وجود آورند . این پیوند ممکن است در سطح فعال و یا قسمتی دیگر از آنزیم و مجزا از نقطه ترکیب سوبسترا به وجود آید . این مواد به طور مطلق در گروه مهار کننده های غیررقابتی طبقه بندی نمی شوند . به عنوان مثال می توان آنزیم پاپائین (papain) را نام برد که دارای یک گروه تیول (SH–) در سطح فعال خود می باشد و به سرعت با اسید یدواستیک ($ICH_2 - COOH$) ترکیب و در این سطح فعال ، S- کربوکسی متیل سیستئین را تولید می کند و شدت جلوگیری از فعالیت آنزیم توسط این منع کننده با مقدار تولید این جسم در سطح فعال بستگی دارد . این نکته نیز یادآوری می شود که اسید یدواستیک ، بعضی از آنزیم های دیگر را که دارای گروه تیول در نقطه ای دیگر بجز سطح فعال خود هستند ، نیز به سبب تغییر شکل فضایی در آنها غیرفعال می کند .

ج) *مهارکننده های غیرقابل رقابت یا رقابت ناپذیر :* این نوع مهارکننده ها به طور قابل برگشت با مجموعه آنزیم ـ سوبسترا (ES) ترکیب می شوند و از تشکیل محصول واکنش جلوگیری می کنند :

و در این صورت معادله لینویور ـ برک برای این نوع مهار کننده ها به ترتیب زیر درخواهد آمد:



برای پی بردن به چگونگی عمل اینگونه مهار کننده ها بدین نحو عمل می شود که ابتدا با غلظت های متفاوت سوبسترا واکنش را انجام داده و منحنی اصلی را مطابق معادله لینویور ـ برک رسم می کنند . در آزمایش بعدی با تثبیت شرایط آزمایش قبلی و تنها با افزودن مقدار ثابتی از مهار کننده آزمایش را تکرار کرده و منحنی مربوط را رسم می کنند و با تکرار اینگونه آزمایشها ، تنها با تغییر غلظت مهار کننده منحنی های متعددی به دست می آید که تماماً موازی هم بوده (دارای شیب یکسان) ولکن محور $\frac{1}{V}$ را در نقاط متفاوت قطع می نمایند .

۲. مهارکننده های یک جانبه یا غیرقابل برگشت این نوع مواد مهار کننده به طور یک طرفه و غیرقابل برگشت به وسیله یک پیوند اشتراکی با آنزیم ترکیب می شوند و تغییرات ثابت و غیرقابل برگشتی را در گروههای سطح فعال آنزیم که برای فعالیت کاتالیزوری آن ضروری است به وجود می آورند و در نتیجه آنزیم به طور کامل از فعالیت باز می ایستد . حضور این قبیل مهارکننده ها در محیط واکنش سبب خواهد شد که سینتیک آنزیم از معادله میکالیس ـ منتون پیروی نکند ، زیرا یکی از شرایط ضروری برای متابعت از معادله میکالیس ـ منتون قابل برگشت بودن واکنش است که در این مورد صادق نیست .

۳. مهار کننده های متابولیک یا ضد متابولیت ها همانطوری که قبلاً نیز اشا ره شد از تشابه ساختمانی برخی از مواد شیمیایی با سوبسترا می توان برای روشن ساختن واکنشهای آنزیمی استفاده کرد ولی از این خاصیت تنها برای این منظور استفاده نمی شود زیرا این نوع مواد می توانند در واکنشها و اعمال فیزیولوژیکی با سوبستراهای اصلی رقابت کنند . هر چند که در حال حاضر اطلاعات ما در مورد این نوع ضد متابولیتها زیاد نیست ولی ثابت شده که تعداد زیادی از موادی که از نظر دارویی فعال اند و اثر درمانی از خود ظاهر می سازند ، سبب تغییر اعمال متابولیکی شده و این اثرات منحصراً به علت اثر آنها روی یک آنزیم و یا یک سیستم آنزیمی آشکار می شود .

تقریباً تمام حیوانات عالی و تعدادی از میکروارگانیسمها نمی توانند بعضی از مواد را که برای ادامه زندگی آنها ضروری است مستقلاً در سلولهای بدن خود تهیه کنند . این مواد در مورد هر یک از انواع موجودات زنده متفاوت و ممکن است شامل بعضی از اسیدهای آمینه ، اسیدهای چرب ، ویتامینها ، بعضی از پوریتها و پیریمیدینها باشد .

بیشتر اعمال فیزیولوژیکی بدن به وسیله آنزیم ها انجام می شود که با به کار گرفتن متابولیت ها رشد را تأمین کرده و چرخ سایر اعمال بدن را به گردش در می آورند . فعالیت آنزیمها را می توان به وسیله موادی به نام ضد متابولیت که دارای ساختمانی شبیه سوبسترا یا متابولیت های اصی می باشند مهار کرد . این ضد متابولیتها مانع به کار گرفتن متابولیتهایی که توسط خود ارگانیزم ساخته می شوند شده و یک وسیله بسیار خوب برای مطالعه متابولیسم محسوب می شوند . بررسی مطالعه اثرات ضد متابولیتها دو نتیجه مفید در برخواهد د اشت :

۱. دستیابی به متابولیتهای لازم برای رشد و نمو انواع مختلف موجودات .
۲. جستجو برای یافتن مهار کننده های قوی به منظور جلوگیری از رشد میکرواورگانیزمهای بیماری زا و انواع تومورهای نئوپلازیک .

غالباً ضد متابولیت هایی را که از اورگانیزم زنده مانند باکتریها ، قارچها ، آکتینومیستها (Actinomycetes) و غیره به دست می آورند آنتی بیوتیک می نامند .

هر چند اثرات ضدمیکروبی مواد شیمیایی سنتتیک مثل آرسفنامین (Arsphenamine) و سولفونامیدها (Sulfonamides) از مدتها قبل شناخته شده بود ، لکن بعدها چگونگی تأثیر آنها مشخص شد ، بدین ترتیب که کیفیت عمل آنها رقابتی است و در حقیقت با اسید پاراآمینوبنزوئیک که یک فاکتور لازم برای رشد باکتریها می باشد رقابت کرده و در نهایت مانع رشد باکتری می شوند .

اسید پاراآمینوبنزوئیک قسمتی از ساختمان اسیدفولیک یا ویتامین B9 را تشکیل می دهد که سولفونامیدها به علت تشابه ساختمانی با این ماده ، آنزیم مربوط را متوقف و مانع بیوسنتز اسیدفولیک توسط باکتری می شوند .

به منظور دست یافتن به ضدمتابولیتهای مفید شاید هزاران ماده دیگر نیز تا کنون تهیه شده اند که به عنوان نمونه به ذکر چند مورد از آنها در زیر اکتفا می شود تا بتوان به ماهیت ضد متابولیت ها بهتر پی برد .

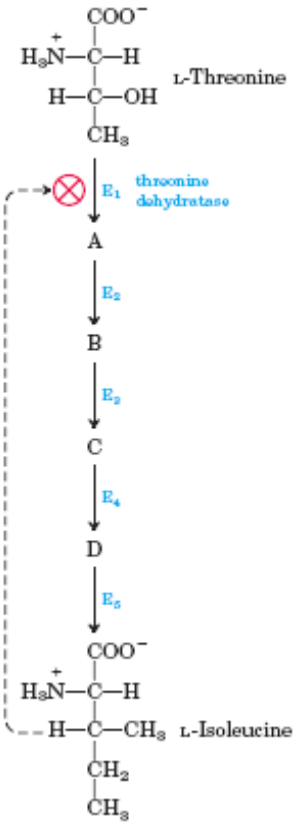
کنترل فعالیت آنزیمی

۱. آنزیمهای آلوستریک

در سیستم های چند آنزیمی ، محصول نهایی می تواند اثر مهار کنندگی روی آنزیمهای مراحل اولیه داشته باشد . آنزیم مهار شده توسط محصول واکنش را اصطلاحاً یک آنزیم آلوستریک (allosteric) می نامند .

در واکنشهای پی در پی فوق P یا محصول نهایی واکنش می تواند به عنوان مهارکننده بر روی آنزیم واکنش اول اثر نماید . این نوع مهار کنندگی توسط مونو ، شانژو و ژاکوب به نام مهر کنندگی پس نورد و یا محصول نهایی مهار کننده و یا پس مهار نامیده شده است .

به عنوان نمونه می توان تهیه ایزولوسین از تره اونین را ذکر کرد :



در این سیستم متابولیکی ، ال ـ ایزولوسین یا محصول نهایی ، آنزیم واکنش اولیه یا ال ـ تره اونین دهیدرآز (E_1) را مهار می کند ، لذا ال ـ تره اونین دهیدر آزیک آنزیم آلوستریک آنزیمهای آلوستریک علاوه بر سطح فعال دارای نقطه دیگری نیز هستند که جسم اثر کننده و یا ماده متعال کننده می تواند در این نقطه به وسیله یک پیوند غیراشتراکی و با یک واکنش برگشت پذیر با آنزیم ترکیب شود . به طور کلی نقطه آلوستریک برای اتصال ماده متعادل کننده به همان اندازه اختصاصی است که سطح فعال برای سوبسترا .

بعضی از مواد متعادل کننده مانند ال ـ ایزولوسین که یک مهار کننده برای تره اونین دهیدرآز محسوب می شود به نام متعادل کننده منفی و بعضی دیگر مانند فسفوانول پیرووات (PEP) که یک متعادل کننده برای آنزیم پیرووات کیناز است بنام متعادل کننده مثبت نامیده می شوند .

در حقیقت متعادل کننده های مثبت باعث افزایش سرعت واکنش می شوند (برعکس متعادل کننده های منفی).

اگر یک آنزیم آلوستریک فقط یک متعادل کننده داشته باشد مونووالان (monovalent) و اگر دارای بیش از یک متعادل کننده باشد پلی والان (polyvalent) نامیده می شود . علاوه بر آن یک آنزیم آلوستریک می تواند دارای متعادل کننده مثبت و منفی و یا هر دو آنها باشد .

آنزیمهای آلوستریک معمولاً دارای وزن مولکولی زیاد هستند و به علت پیچیدگی ساختمانی خالص نمودن آنها مشکل است . تقریباً تمام آنزیمهای آلوستریک اولیگومر می باشند و یا به عبارت دیگر در ساختمان آنها بیش از دو زنجیر پلی پپتیدی وجود دارد که در اغلب اوقات تعداد زنجیرها زوج است .

سینتیک آنزیمهای آلوستریک:

طرح میکالیس ـ منتون به علت سادگی و کاربرد وسیع آن در مطالعه و پیشرفت شیمی آنزیمها و روشن ساختن چگونگی سینتیک آنها اهمیت بسیاری دارد . ولی سینتیک بیشتر آنزیمها از آن تبعیت نمی کند که در این صورت مطالعه چگونگی عمل آنها بر اساس این طرح امکان پذیر نیست . رسم منحنی گروهی از آنزیمهای آلوستریک با توجه به سرعت واکنش و غلظت سوبسترا به شکل یک S کشیده یا سیگموئید درخواهد آمد در حالیکه در طرح میکالیس ـ منتون منحنی سینتیک آنزیمها به شکل سهمی است . شباهت این منحنی ها با منحنی ترکیب اکسیژن با میوگلوبین که به شکل هذلولی و برای هموگلوبین به صورت سیگموئید می باشد قابل توجه است .

با توجه به نقاط متعدد فعال در ساختمان آنزیمهای آلوستریک ، گاهی اوقات لازم است که قبل از پذیرش مولکول سوبسترا ، این نقاط روی یکدیگر اثر کرده تا مولکول آنزیم توانایی قبول سوبسترا را پیدا کند . در چنین حالتی پیوند سوبسترا با آنزیم یک عمل تعاونی و یا کمک دهنده است و منحنی سینتیک آن به صورت سیگموئید در خواهد آمد . همچنین ممکن است در یک آنزیم آلوستریک عمل آنزیم به وسیله مولکول ماده دیگری که بر نقطه ای غیر از نقطه فعال اثر می کند قابل تنظیم باشد در این مورد م یتوان اثر دی فسفوگلیسرات ، یون هیدروژن و یا انیدرید کربنیک را در اکسیژنه شدن هموگلوبین ذکر کرد .

مکانیزم عمل آنزیمهای آلوستریک

در مورد چگونگی ترکیب سوبسترا با آنزیمهای آلوستریک ، مکانیزمهای متفاوتی پیش بینی شده است که مهمترین آنهادر اینجا به اختصار ذکر می شود :

الف) مدل هماهنگ یا گروهی ـ در این مدل آنزیم از دو واحد مشابه که هر کدام دارای یک سطح فعال اند ساخته شده است . بعلاوه آنزیم می تواند به دو شکل فضایی R و T که قابل تبدیل به یکدیگر می باشند در آید به طوری که میل ترکیبی شکل R برای سوبسترا به مراتب بیشتر از شکل T است .

نکته مهم در این فرضیه این است که در هر دو شکل T,R ، هر دو واحد تشکیل دهنده آنزیم باید دارای شکل فضایی مشابه باشند تا قرینگی مداوم آنزیم حفظ شود .

در این صورت RR و TT دو شکل احتمالی خواهند بود و تشکیل مخلوط به شکل RT نمی تواند صورت گیرد . شکل ۱۴ چگونگی ترکیب سوبسترا با نوع فعال آنزیم را نشان می دهد .

در این صورت اگر سوبسترا در محیط واکنش وجود نداشته باشد تقریباً تمام آنزیم به شکل غیر فعال (T) است و فقط در حدود یک هزارم آن به شکل فعال (R) در می آید و با اضافه کردن سوبسترا تعادل به سوی ایجاد شکل فضایی R برقرار می شود و هنگامی که سوبسترا به یک طرف آنزیم متصل شد سطح فعال در طرف دیگر همان آنزیم باید به شکل R در آید . به عبارت دیگر تبدیل شکل T و R و یا برعکس ، یک هم آهنگی دو طرفه را ایجاد می کند و نام « هم آهنگ » نیز از همین عمل مشارکت دوجانبه گرفته شده است . بدین ترتیب با اضافه شدن مقدار سوبسترا در محیط واکنش ، میزان شکل R آنزیم نیز رو به افزایش می گذارد تا اینکه سطح فعال مولکولهای آنزیم کاملاً توسط سوبسترا اشباع شود و تمام مولکولهای آنزیم به شکل R در آیند .

با در نظر گرفتن این مدل ، اثر مواد فعال کننده و مهار کننده آنزیمهای آلوستریک را می توان به سهولت توجیه کرد . تمام مهار کننده های آنزیمهای آلوستریک بر شکل T اثر می کنند در صورتی که فعال کننده های آنها با شکل R ترکیب می شوند . به عبارت دیگر مهار کننده آلوستریک تعادل را از R به T و فعال کننده آلوستریک ، تعادل را از T به R متمایل خواهد کرد .

ب) مدل متوالی یا مرحله ای ـ این مدل توسط دانیل کوشلند وضع شده و شامل سه فرضیه پیشنهادی زیر است :

۱. برای هر نیمه مولکول آنزیم ، فقط دو شکل فضایی R و T امکان پذیر است .

۲. ترکیب سوبسترا با هر یک از دو نیمه مولکول آنزیم سبب تغییر شکل فضایی آن واحد می شود و در شکل فضایی نیمه دوم تغییر عمده ای ایجاد نمی کنند .

۳. تغییرات حاصل از ترکیب سوبسترا با نیمه اول مولکول آنزیم می تواند میل ترکیبی نیمه دوم را نسبت به سوبسترا افزایش و یا کاهش دهد .

بر اساس فرضیه های ذکر شده ، چگونگی ترکیب سوبسترا با مولکول آنزیم آلوستریک را می توان به صورت زیر نشان داد .

اگر چه دو مدل پیشنهادی یعنی مدل هم آهنگ و مدل متوالی با یکدیگر وجه افتراق های متعددی دارند ، لکن به درستی نمی توان گفت که جنبه های عملی کدامیک بر دیگری ترجیح دارد . مطالعات انجام شده نشان می دهد که بعضی از آنزیمهای آلوستریک از مدل هماهنگ و بعضی دیگر از مدل متوالی پیروی می کنند . علی رغم مطالب ذکر شده باید گفت که در مورد بعضی از آنزیمهای آلوستریک ، هیچیک از نظریات بالا به علت پیچیدگی ساختمان آنزیم نحوه عمل آن را کاملاً توجیه نمی کند و مدلهای پیچیده تری لازم است تا بتوان خاصیت آلوستری آنها را درک کرد .

۲. آنزیمهای تنظیم کننده ای که توسط پیوندهای اشتراکی تعدیل می شوند

تبدیل شکل فعال این نوع آنزیمها به نوع غیرفعال و یا برعکس ، توسط آنزیم دیگری انجام می گیرد و این تغییر معمولاً با افزایش و یا برداشت یک گروه (مثلاً فسفات) به وسیله یک پیوند اشتراکی به مولکول آنزیم اصلی همراه است . نمونه کامل در این مورد ، آنزیم تنظیم کننده گلیکوژن فسفوریلاز بافتهای عضلانی است . این آنزیم گلیکوژن و یا پلی ساکاریدهای دیگر را که از پلی مرهای گلوکز تشکیل شده باشند به گلوکز -۱- فسفات تجزیه می کند :

این آنزیم به دو شکل بسیار فعال (a) و کم فعال (b) وجود دارد . در عصله فسفوریلاز a یک پروتئین اولیگومری است که از دو واحد پلی پپتیدی تشکیل شده و هر واحد آن محتوی یک اسید آمینه سرین است که گروه هیدروکسیل آن می تواند به وسیله آنزیم فسفوریلازکیناز (آنزیم دوم) فسفوریله شود و به صورت سرین فسفات در آید . وجود این گروههای فسفات برای حد اکثر فعالیت آنزیم ضروری است و چنانچه آنزیم فعال (a) گروه فسفات خود را تحت تأثیر آنزیم فسفوریلازفسفاتاز از دست بدهد به شکل کم فعال (b) تبدیل می شود .

بدین ترتیب ملاحظه می شود که فعالیت گلیکوژن فسفوریلاز به وسیله دو آنزیم تنظیم می شود.

دومین خاصیت مهم این آنزیم و دیگر آنزیمهای تنظیم کننده که با تغییرات کووالانسی تعدیل و اثر خود را نشان می دهند این است که می توانند یک محرک شیمیایی را چندین برابر تقویت کنند . برای مثال یک مولکول از آنزیم فسفوریلاز کیناز می تواند هزاران مولکول آنزیم فسفوریلاز (b) کم فعال را به فسفوریلاز (a) فعال تبدیل کند . به

طور کلی تا کنون در مورد نحوه فعالیت این دسته از آنزیمها دو نوع تغییرات شیمیایی شناخته شده است . آنزیم فسفوریلاز و دیگر آنزیمهای مشابه با انتقال یک گروه فسفات از ATP به مولکول آنزیم اصلی فعالیت خود را ظاهر می سازند .

مثال دوم شامل انتقال یک گروه آدنیل ATP به آنزیم است . این نوع آنزیمها را می توان با واکنش آنزیمی گلوتامین سنتتاز نشان داد .

گلوتامین سنتتاز از ۱۲ واحد پلی پپتیدی شبیه بهم تشکیل شده است . در مجاورت ATP گروه آدنیل از ATP به گروه هیدروکسیل تیروزین موجو در هر یک از ۱۲ واحد پلی پپتیدی آنزیم منتقل می شود و گلوتامین سنتتاز فعال را به گلوتامین سنتتاز غیرفعال تبدیل می کند . با برداشت گروه آدنیل مجدداً آنزیم غیرفعال به شکل فعال آن تبدیل می شود . این واکنشها نمونه ای از تعدیل این نوع آنزیمها را به وسیله تشکیل پیوندهای کووالانسی نشان می دهد .

۳. ایزوآنزیمها یا ایزوزیمها (Isozymes)

گروه سوم آنزیمهای تنظیم کننده به نام ایزوآنزیمها (Isoenzymes) یا ایزوزیمها نامیده می شوند . ایزوآنزیمها اشکال متفاوت یک آنزیم محسوب می شوند که در یک ارگانیسم و یا در یک سلول یافت می شوند و توسط ژن های متفاوت تهیه می شوند . تمامی ایزوآنزیمهای یک آنزیم واکنش یکسانی را کاتالیز می کنند . ایزو آنزیمها دارای توالی اسیدهای آمینه و pH ایزوالکتریک متفاوت هستند و به همین سبب می توان آنها را به وسیله الکتروفورز از یکدیگر جدا کرد . لاکتیک دهیدروژناز (LDH) یکی از آنزیمهای این گروه است که پژوهش های گسترده ای در مورد آن به عمل آمده و توانسته اند تا کنون پنج نوع ایزوآنزیم مربوط به آن را در بافتهای موش و مهره داران یگر تشخیص دهند و از یکدیگر جدا کنند .

لازم به یادآوری است که تمام این ایزوآنزیمها یک واکنش مشابه را انجام می دهند .

وزن مولکولی تمام ایزوآنزیمهای LDH یکسان و در حدود ۱۳۴۰۰۰ می باشد . از نظر ساختمانی تمام آنها از چهار رشته پلی پپتیدی با وزن مولکولی در حدود ۳۳۵۰۰ تشکیل شده اند . این رشته های پلی پپتیدی دارای دو شکل H و M هستند که از ترکیب آنها با یکدیگر انواع پنجگانه ایزوآنزیمهای LDH حاصل می شود.

ایزوآنزیمی که در عضلات مخطط و به خصوص در کبد یافت می شود از همه فراوان تر است و از چهار رشته M به وجود آمده و بهمین سبب با علامت اختصاری M_4 نشان داده می شود . ایزوآنزیم دیگری از LDH که در ماهیچه قلب به فراوانی یافت می شود از چهار رشته پلی پپتیدی یکسان H تشکیل شد و با علامت اختصاری H_4 مشخص می شود . تعداد سه ایزو آنزیم که از مخلوطی دیگر از رشته های H و M به وجود آمده اند با علائم اختصاری , MH_3 M_3H, M_2H_2 نشان داده می شوند .

پس از جدا و خالص کردن رشته های پلی پپتیدی M وH نشان داده اند که این رشته ها در ترکیب و توالی اسیدهای آمینه کاملاً با یکدیگر متفاوت اند . کد یا رمز ژنتیک رشته های M و H نیز متفاوت است و بیوسنتز و تولید ایزوآنزیمهای مخلوط نیز زیر کنترل و نظارت ژن های مختلف صورت می گیرد . بررسیهای اخیر نشان داده است که ایزوآنزیمهای مربوط به یک آنزیم با وجود اینکه همگی واکنش مشابه ای را کاتالیز می کنند لیکن از نظر K_m و

V_{max} برای سوبستراهای مختلف متفاوت اند و این امر به ویژه در مورد اسید پیرورویک به اثبات رسیده است . بافتهای مختلف که دارای یک و یا چند نوع از ایزوآنزیمهای LDH می باشند در شکل ۲۰ نشان داده شده اند .

بررسی تغییرات ایزوآنزیمهای LDH از نظر بالینی حائز اهمیت فراوانی است و در تشخیص افتراقی بعضی از بیماریها مورد استفاده قرار می گیرد . به عنوان مثال می توان افزایش LDH_2 یا MH_3 و LDH_1 یا H_4 را در سکته قلبی و افزایش LDH_5 یا M_4 را در عوارض کبدی نام برد .

واژه های آنزیمی

قبل از اینکه به شرح چگونگی عمل آنزیمها بپردازیم لازم است برای درک بهتر مطالب ، برخی از واژه های آنزیمی توضیح داده شوند :

۱. نیروی کاتالیزوری نیری کاتالیزوری یک آنزیم به توانایی آن در افزایش سرعت انجام یک واکنش شیمیایی اطلاق می شود .

۲. باقیمانده های کاتالیزوری ـ این واژه به اسیدهای آمینه ای اطلاق می شود که مستقیماً در ایجاد پیوندهای اشتراکی بین سوبسترا و آنزیم شرکت می کنند . برای مثال می توان سرین ۱۹۵ و هیستیدین ۵۷ را در آنزیم کیموتریپسین نام برد .

۳. سطح یا نقطه فعال ـ نقطه یا سطح فعال به ناحیه از مولکول آنزیم اطلاق می شود که ر اطراف باقیمانده های کاتالیزوری قرار دارند و در واقع جایگاه اثر سوبسترا و اتصال آن به آنزیم می باشد . ناحیه M_1 و S در شکل ۲۱ .

٤. آنزیم های آلوستریک ـ آنزیمهایی را شامل می شوند که علاوه بر دارا بودن نقطه فعال ، دارای نقطه دیگری هستند که در نزدیکی سطح فعال قرار دارد و محل اثر مواد متعادل کننده آنزیم است . ناحیه M_1 در شکل ۲۱ همچنین منحنی سینتیک آنها به صورت یک S کشیده است و دیگر اینکه در سیستم های متابولیکی در نقاط انشعابی قرار گرفته و بالاخره تابع مدل قرینگی می باشند . ممکن است تمام خصوصیات مذکور ، در یک آنزیم آلوستریک وجود نداشته باشد زیرا وجود تمام این عوامل در یک آنزیم آلوستریک ضروری نیست .

۵. پدیده آلوستریک ـ طبق تعریف ، این پدیده به اثر تعدیل کنندگی ماده متعادل کننده آنزیم اطلاق می شود که اثر خود را ممکن است در نقطه ای نزدیک جایگاه فعال و یا اینکه در نقطه ای کاملاً دور از نقطه فعال اعمال نماید .با توجه به شکل ۲۱ این نقطه به ترتیب M_1 و M_2 می باشند و به ترتیب متعادل کننده اتوستریک و متعادل کننده آلوستریک نامیده می شود .

۷.لیگاندها (Ligands) ـ لیگاندها مولکولهای کوچکی هستند که به وسیله پیوندهای غیراشتراکی به مولکول آنزیم متصل می شوند ، مانند فعال کننده ها ،مهار کننده ها و همچنین خود مولکول سوبسترا .

۸. عوامل اثر کننده یا اصلاح کننده ـ در حقیقت لیگاندهایی هستند که در اثر اتصال به مولکول آنزیم می توانند در افزایش یا کاهش فعالیت آن مؤثر باشند و خود بدون تغییر باقی بمانند . این تغییرات ممکن است مستقیماً انجام پذیرد یا اینکه به طور غیرمستقیم با به کار گرفتن لیگاند دیگری اعمال شوند .

ویژگی عمل آنزیمها

به طور کلی عمل آنزیمها اختصاصی است و همین ویژگی سبب تمایز آنها از کاتالیزورهای دیگر می شود . در حقیقت درجه اختصاصی بودن عمل آنزیم بستگی به نوع آنزیم دارد ، مثلاً ممکن است که آنزیمی تنها یک واکنش شیمیایی را کاتالیز کند ولی آنزیمهایی هم یافت می شوند که می توانند یک سری واکنش های مشابه را کاتالیز کنند .

برای روشن شدن مطلب می توان نمونه هایی ، از جمله آنزیمهای پروتئولیتیک را ذکر کرد . آنزیم پروتئولیتیک سوبتیلیسین (Subtilisin) که در برخی از باکتریها یافت می شود برای هیدرولیز پیوندهای پپتیدی هیچگونه محدودیتی ندارد و قادر است هر نوع پیوند پپتیدی را هیدرولیز کند . در مقابل آنزیم تریپسین را می توان نام برد که عملش کاملاً اختصاصی است و فقط قادر است اتصالهای پپتیدی را که گروه کربوکسیل آن مربوط به یکی از اسیدهای آمینه لیزین و یا آرژینین باشد ، هیدرولیز کند .

کیموتریپسین یکی دیگر از آنزیمهای پروتئولیتیک است که تنها می تواند پیوند پپتیدی که گروه کربوکسیل آن متعلق به یک اسید آمینه آروماتیک باشد هیدرولیز کند .

عمل ترومبین (آنزیمی که در انعقاد خون شرکت می کند) حتی اختصاسی تر از تریپسین است و پیوندی را هیدرولیز می کند که گروه کربوکسیل آن متعلق به اسید آمینه آرژینین و گروه آمین آن متعلق به اسید آمینه گلیسین باشد .

با توجه و دقت در ویژگی و کیفیت عمل آنزیمهای فوق روی یک سوبسترا چند نکته مهم روشن می شود . اول اینکه آنزیمها برای ظاهر کردن اثر خود باید دارای آرایش و یا به عبارت دیگر شکل فضایی مشخصی باشند و این امر در سال ۱۹۳۵ توسط برگمان و همکارانش به اثبات رسیده است . دوم اینکه اتصال سوبسترا با گروههای تکمیلی در سطح فعال آنزیم ، توسط پیوندهای هیدروفوبیک ، الکترواستاتیک و یا هیدروژنی انجام می گیرد .

تشکیل مجموعه آنزیم ـ سوبسترا

اولین قدم در یک واکنش آنزیمی که شامل تشکیل و یا شکسته شدن یک پیوند شیمیایی توسط آنزیم است مستلزم تولید مجموعه آنزیم ـ سوبسترا (ES) می باشد .

در این مرحله سوبسترا به نقطه معینی بر روی آنزیم متصل می شود که به نام سطح یا جایگاه فعال نامیده می شود .

بیشتر آنزیمها در ترکیب خود با سوبسترا ویژگی فوق العاده ای نشان می دهند و این ویژگی ناشی از اختصاصی بودن عمل ترکیب آنزیم با سوبستراست . به علاوه ، کنترل فعالیت آنزیمها نیز به طور اختصاصی انجام می گیرد . مجموعه آنزیم ـ سوبسترا را می توان به وسیله میکروسکوپ الکترونی و کریستالوگرافی با اشعه ایکس به وضوح مشاهده نمود . گریفیت به کمک میکروگرافی ، توانسته است مجموعه اسیدنوکلئیک ـ پلی مراز را نشان دهد .

با به کار گرفتن اشعه ایکس می توان چگونگی اثر کربوکسی پپتیداز A را در هنگام هیدرولیز دی پپتید گلیسیل ال ـ تیروزین مشاهده کرد و همچنین به برخی از جزئیات این واکنش در مورد محل و نحوه ترکیب سوبسترا با آنزیم پی برد

۲. بیشتر خواص فیزیکی آنزیم مانند حلالیت یا پایداری آن در برابر حرارت در نتیجه تشکیل مجموعه ES تغییر می کند .

۳. خواص اسپکتروسکوپی تعداد زیادی از آنزیمها و سوبستراها پس از تشکیل مجموعه ES تغییر می کند . این تغییرات را می توان در نیروی جذب نور توسط هموگلوبین در هنگام ترکیب با اکسیژن به وضوح مشاهده کرد . برای

مثال تریپتوفان سنتتاز آنزیمی است که در بعضی از باکتریها یافت می شود و دارای یک گروه پروستتیک رنگی مانند فسفات پیریدوکسال است . این آنزیم می تواند تریپتوفان را از ال ـ سرین و اندول تهیه کند و در این مورد نیز با اضافه کردن ال ـ سرین به محیط آنزیم ، خاصیت فلوئورسانس مجموعه ES کاملاً تغییر می کند .

۴. در تشکیل مجموعه ES ویژگی فضایی نقش مهمی را ایفا می کند به طوری که د ـ سرین که ایزومر فضایی ال ـ سرین است ، نمی تواند به عنوان سوبسترا برای تریپتوفان سنتتاز به کار رود .

۵. مجموعه ES را گاهی می توان به صورت خالص از مخلوط جدا کرد .

۶. اگر غلظت آنزیم ثابت باشد با زیاد شدن غلظت سوبسترا ، سرعت واکنش تا حد سرعت ماکزیمم افزایش می یابد و در این حالت تمام سطوح کاتالیزوری آنزیم توسط سوبسترا اشغال می شود .

برخی از مشخصات سطوح فعال آنزیمها

سطح فعال آنزیم به نقطه ای از آن اطلاق می شود که سوبسترا و یا گروه اضافی به این نقطه متصل می شود و همین مکان است که می تواند سبب برقراری و یا شکستن یک پیوند شود . گروههایی که در این اتصالها شرکت کرده و درگیر می شوند ، در سطح فعال آنزیم قرار دارند و به گروههای کاتالیزوری معروفند . با وجودی که بیشتر آنزیمها در نوع ساختمان ، اختصاصی بودن عمل ، گروههای کاتالیزوری ، شکل فضایی و دیگر مشخصات سطح فعال با یکدیگر اختلاف دارند ، با این وجود بیشتر سطوح فعال آنزیمها دارای خواص مشابه زیر می باشند :

۱. سطح فعال تنها یک محدوده بسیار جزئی از آنزیم را تشکیل می دهد و بقیه اسیدهای آمینه موجود در یک آنزیم با سوبسترا تماسی ندارند .
۲. سطح فعال دارای شکل فضایی سه بعدی است که ممکن است از گروههای متفاوت تشکیل شده باشد .
۳. ترکیب یک جسم مشخص با سطح فعال با طرز آرایش اتمها در این جایگاه بستگی دارد و یا به عبارت دیگر سوبسترا باید دارای شکل معینی باشد تا بتواند در سطح فعال جایگزین شود امیل فیشر ترکیب آنزیم و سوبسترا را به کلید و قفل تشبیه کرده است . زیرا همانطوری که کلید طوری ساخته شده که مکمل سوراخ قفل است ، سطح فعال آنزیم نیز از نظر شکل فضایی باید تکمیل کننده سوبسترا باشد .ولی با این وصف ، بررسی های اخیر نشان داده است که جایگاه فعال آنزیم شکل معینی ندارد و فقط در هنگام ترکیب با سوبسترا به شکل مطلوب و یا شکل مکمل سوبسترا در می آید . این پدیده شکل مناسب القایی نامیده می شود .
۴. از نظر نوع پیوند ، اتصال بین آنزیم و سوبسترا یک نوع اتصال سست و ضعیف است .
۵. سطح فعال آنزیم از شیاها و پستی و بلندیهایی تشکیل شده است که تمام آنها تقریباً فاقد مولکولهای آب و دارای چندین گروه قطبی است . این گروههای قطبی که دارای بار الکتریکی هستند برای اتصال سوبسترا و عمل کاتالیزوری لازم اند و عمل ترکیب را تسریع می کنند .

انواع پیوندها در مجموعه آنزیم ـ سوبسترا

واکنش های حیاتی در حقیقت حاصل برخورد مولکولهای موجودر در محیط اند و اکثراً قابل برگشت و تحت تأثیر سه عامل ذیل قرار دارند .

- آرایش فضایی مولکولها
- چگونگی اتصال سوبسترا به آنزیم
- اثر مولکولها بر یکدیگر

به طور کلی در سیستم های حیاتی اثر متقابل مولکولها بر یکدیگر حاصل تغییر و تحول سه نوع پیوند یونی ، هیدروژنی و اندروالس است ، این سه نوع پیوند از جمله پیوندهای غیراشتراکی محسوب می شوند و از لحاظ هندسی ، نیروی اتصال و خصوصیات عمل در محیط آبی از یکدیگر متمایزند .

۱. پیوندهای یونی ـ گروههای یونی سوبسترا می توانند با گروههای یونی آنزیم که دارای بار الکتریکی مخالف هستند ، ترکیب شوند . نیروی لازم برای این نوع اتصال را قانون کولمب چنین بیان می کند .

در این رابطه q_1, q_2 بارهای دو گروه متضاد ، r فاصله بین دو یون و D عدد یا ضریب ثابت دی الکتریک محیط می باشند .

تمایل اتصال یونها به یکدیگر در خلأ (D=1) حداکثر و در آب (D=80) حداقل است . برای مثال می توان ترکیب آنزیم کربوکسی پپتیداز A با دی پپتیدگلیسیل ـ ال ـ تیروزین را نام برد . گروه کربوکسیل که در انتهای زنجیر دی پپتید قرار دارد ، دارای بار منفی است و قادر است با گروه مثبت گوانیدین واقع در مولکول آنزیم ترکیب شود . در این حالت در مجموعه ES ، فاصله بین دو یون (r) برابر ۲۸ آنگستروم است .

برای چنین اتصال و یا تداخلی اسامی دیگری از قبیل پیوند یونی ، اتصال نمکی ، و یا جفت یونی را می توان ذکر کرد . در واقع تمام این اصطلاحات یک نوع پیوند را توصیف می کنند . به طور کلی گروههای منفی سوبسترا می توانند با ایجاد یک پیوند یونی با گروههای مثبت زنجیر کناری اسیدهای آمینه لیزین و آرژینین موجود در مولکول آنزیم ترکیب شوند . همچنین گروه ایمیدازول هیستیدین و یا گروه آمین انتهایی یک اسید آمینه موجود در مولکول آنزیم نیز می توانند با گروههای منفی سوبسترا پیو ند مشابهی را به وجود آورند به شرط اینکه pH محیط طوری انتخاب شده باش که گروه آمین دارای بار مثبت باشد . برعکس یک سوبسترا با گروههای مثبت ، می تواند با آنزیمی پیوند یونی ایجاد کند که د ارای گروه منفی مثل گروه کربوکسیل آسپارتات و گلوماتات باشد .

۲. پیوندهای هیدروژنی با وجودی که برخی از سوبستراها فاقد بار الکتریکی می باشند می توانند با آنزیم مربوطه ترکیب شوند . در این مورد اتصالهای هیدروژنی عامل اصلی این نوع ترکیبات شناخته شده اند . در این نوع ترکیب ، یک اتم هیدروژن مشترکاً بین دو اتم دیگر قرار گرفته است . اتمی که پیوند قوی تری با هیدروژن دارد به نام دهنده هیدروژن و اتم دیگر را پذیرنده هیدروژن می نامند . در حقیقت اتصال هیدروژنی را می توان به عنوان یک واسطه برای انتقال یک پروتون از یک اسید به یک باز تلقی کرد و معمولاً اتم قبول کننده دارای بار منفی نسبی است که می تواند اتم هیدروژن را به خود جذب کند .

در سیستمهای حیاتی ، اتمهای دهنده و پذیرنده هیدروژن می توانند اتمهای اکسیژن و یا ازت باشند ، نوع پیوند و فاصله آنها در جدول نشان داده شده است . نیروی اتصال هیدروژنی ۳ الی ۶ کیلو در مول است لذا پیوندهای هیدروژنی به مراتب ضعیف تر از اتصالهای کووالانسی (۱۰ کیلو کالری در مول) و محکم تر از اتصال های واندروالس می باشند .

یکی از ویژگیهای مهم پیوند هیدروژنی مشخص بودن جهت آن است و محکم ترین پیو ند هیدروژنی هنگامی برقرار می شود که پذیرنده هیدروژن و دهنده آن هر دو در یک سطح قرار داشته باشند .

در پروتئینها در تشکیل مارپیچ های آلفا و بتا اتصالهای هیدروژنی بین گروههای C=O, -NH– برقرار شده و اتم هیدروژن به ازت نزدیکتر است تا به اکسیژن .

نقش اتصالهای هیدراتهای هیدروژنی در تشکیل مجموعه آنزیم ـ سوبسترا را می توان در ترکیب اوریدین (به عنوان سوبسترا) با آنزیم ریبونوکلئاز پانکراس (آنزیمی که سبب شکسته شدن اسیدهای ریبونوکلئیک می شود) نشان داد .

به طور کلی در این مجموع سه پیوند هیدروژنی به وجود می آید که عبارتند از :

۱. یکی از گروههای کربونیل (C=O-) حلقه اوریدین با NH– پپتید (آنزیم) تولید یک اتصال هیدروژنی می کند .
۲. گروه NH– حلقه اوریدین با گروه OH– اسید آمینه تره اونین موجود در آنزیم تشکیل دومین اتصال هیدروژنی را می دهد .
۳. دومین گروه کربونیل موجود در حلقه اوریدین با گروه OH– سرین ، سومین پیوند هیدروژنی را تشکیل می دهد .

پیوندهای هیدروژنی در پروتئینها رشته های کناری اسیدهای آمینه تشکیل دهنده مولکول پپتیدها و پروتئینها قادرند در تشکیل پیوندهای هیدروژنی شرکت کنند . در حقیقت یازده اسید آمینه از بیست اسید آمینه اصلی قادر به تشکیل چنین پیوندهایی هستند و می توان این اتصالها را در سه گروه زیر تقسیم بندی کرد :

۱. رشته کناری تریپتوفان و آرژینین می توانند به عنوان گروه دهنده هیدروژن عمل کنند .
۲. رشته های کناری آسپاراژین ، گلوتامین ، سرین ، تره اونین قادرند به عنوان گروه دهنده و یا پذیرنده هیدروژن عمل کنند .
۳. در لیزین و یا هر اسید آمینه ای که دارای عامل انتهایی باشد و همچنین اسید آسپارتیک و یا هر اسید آمینه ای که دارای عامل کربوکسیل انتهایی باشد و علاوه بر اینها در اسیدهای آمینه تیروزین و هیستیدین ، قدرت تشکیل اتصال هیدروژنی بستگی به Ph محیط دارد که بر حسب تغییرات آن ، اسید آمینه می تواند گیرنده و یا دهنده هیدروژن باشد .

۳. اتصالهای واندروالس هرگاه دو اتم به فاصله ۰/۳ الی ۰/۴ نانومت از هم قرار گیرند نیروی جذب و کششی بین آنها به وجود خواهد آمد . جاذبه ای را که بین این دو اتم در اثر این نیروی کشش حاصل می شود به نام اتصال واندروالس شناخته شده است . این نوع اتصال ضعیفتر از پیوندهای یونی و هیدروژنی است و خصوصیات آن نیز در مقایسه با این اتصالها کاملاً مشخص نشده است .

علت به وجود آمدن این نوع اتصال تغییر بار الکتریکی در اطراف یک اتم می باشد زیرا در هر لحظه گسترش و یا انتشار شارژ الکتریکی در یک اتم غیرقرینه است و با زمان تغییر می یابد.

این نوع پراکندگی شارژ الکتریکی در یک اتم ،سبب تغییراتی در بار الکتریکی اتم همجوار خود شده و نیروی جاذبه همجوار ، با نزدیک شدن آن به یکدیگر افزایش می یابد تا آنجا که فاصله بین دو اتم بقدری کاهش می یابد که

ابرهای الکترونی آنها با یکدیگر تماس پیدا می کنند و در این حالت به علت برخورد دو شارژ همنام نیروی دافعه بسیار شدیدی حاصل می شود . این فاصله را که ابرهای الکترونی دو اتم شروع به برخورد با هم می کنند ، فاصله تماس می نامند .

انرژی یک اتصال واندروالس برای دو اتم مجاور ، برابر با یک کیلو کالری در مول است که به مراتب ضعیفتر از انرژی لازم برای یک اتصال یونی و یا هیدروژنی است . در این صورت می توان گفت که این نوع پیوند بسیار ضعیف است و تنها زمانی دارای اهمیت می شود که تعداد زیادی از اتم های سوبسترا در یک لحظه و همزمان با اتم های آنزیم مجاور شوند و این نیز موقعی اتفاق می افتد که آنزیم از نظر شکل فضایی با سوبسترا کاملاً مطابقت داشته باشد . به عبارت دیگر یک سوبسترا هنگامی می تواند با یک آنزیم به وسیله اتصالهای واندروالس ترکیب شود که از نظر شکل فضایی مکمل یکدیگر باشند .

چگونگی اثر آب بر روی تشکیل پیوندهای هیدروژنی ، یونی و واندروالس

آب تقریباً در تمام اعمال حیاتی شرکت می کند و به این خاطر اثر آن در تشکیل انواع پیوندهای شیمیایی انکار ناپذیر است .

۱. خاصیت دو قطبی بودن آب مولکول آب مثلثی شکل است و از نظر انتشار شارژ الکتریکی یک مولکول غیر متقارن است . اتم اکسیژن الکترونها را از هسته هیدروژن دور کرده و با جذب آنها به سمت خود باعث به وجود آمدن یک شارژ مثبت در حوالی هسته هیدروژن می شود بدین ترتیب اگر اکسیژن به صورت یک هرم چهار وجهی منظم (تتراهیدرون) مجسم شود در دو گوشه آن اتمهای هیدروژن و دو گوشه دیگر آن (به علت دارا بودن بارهای منفی) تشکیل نواحی الکترونگاتیورا در مولکول آب می دهد و بنابراین می توان نتیجه گرفت که مولکول آب دارای ساختمان دوقطبی است .

۲. میل ترکیبی مولکولهای آب با یکدیگر مولکولهای آب دارای میل ترکیبی زیاد با یکدیگرند . در یک مجتمع از مولکولهای آب ، نواحی دارای بار الکتریکی منفی سعی می کنند خود را با نزدیکترین نواحی که دارای بار الکتریکی مثبت هستند هم جهت سازند ، بدین ترتیب که هر یک از دو ناحیه الکترونگاتیو در مولکول آب ، یک پروتون از مولکول همجوار خود جذب می کند و در این حال هر دو مولکول اکسیژن به صورت مرکز چهار وجهی منظم برای مولکول های اکسیژن اطراف خود در خواهد آمد . شکل ۳۰ بیانگر این پدیده در ساختمان مولکولی یخ است . فاصله دو اتم اکسیژن مجاور (O-O) برابر ۰/۲۷۶ نانومتر است .

هنگامی که یخ آب می شود ساختمان منظم آن در چند نقطه از هم گسیخته و در حدود ۱۵ درصد اتصالهای آن می شکنند . هر مولکول آب به طور متوسط ۳/۴ مولکول آب مجاور خود اتصالهای هیدروژنی را تشکیل می دهد . لذا می توان گفت که آب نیز دارای ساختمان منظمی است ولی مجموعه اتصالهای هیدروژنی آن همیشه در حالت شکستن و برقراری دوباره است .

۳. اثر آب در تضعیف اتصالهای قطبی با توجه به خاصیت قطبی بودن مولکول آب و قدرت تشکیل اتصالهای هیدروژنی ، آب می تواند سبب تضعیف پیوندهای یونی و هیدروژنی در مولکولهای دیگر شود . زیرا آب در این واکنشهای قطبی به صورت یک رقیب شرکت می کند . برای مثال می توان تشکیل پیوند هیدروژنی بین گروه کربونیل

و گروه آمید در پروتئینها را ذکر کرد . آب می تواند به عنوان یک گروه دهنده هیدروژن جانشین گره NH– شود و یا اینکه اتم اکسیژن آن در تشکیل یک اتصال هیدروژنی دیگر جانشین گروه کربونیل شود .

ضریب ثابت دی الکتریک آب زیاد است و بهمین جهت سبب کاهش واکنشهای یونی می شود . چگونگی عمل به این شکل است که مولکولهای آب با محاصره یونها مانع ترکیب آنها با یکدیگر می شوند .

فعل و انفعالات آب گریز

گروههای غیر قطبی در محیط آبی تمایل زیادی به تجمع با یکدیگر دارند و در این مورد می توان چگونگی جمع شدن قطرات پراکنده روغن در آب را به عنوان مثال ذکر کرد . قطرات روغن سعی می کنند به یکدیگر بچسبند و تشکیل یک قطره بزرگتری را بدهند . در سطح اتمی ، مولکولهای غیرقطبی در آب جذب یکدیگر می شوند و تشکیل مجتمع بزرگتری را می دهند . این تجمع و جذب مولکولها به یکدیگر را فعل و انفعالات هیدروفوبیک می نامید و در واقع می توان گفت که آب مولکولهای غیرقطبی را از خود رانده و بهم می فشرد .

در سیستمهای حیاتی خاصیت هیدروفوبیک بعضی از مولکولها ، علت اصی خم شدن مولکولهای بزرگ و اتصال سوبسترا به آنزیم است و از این رو بررسی اساسی این پدیده حائز اهمیت بسیار است . برای درک بیشتر این موضوع ، نحوه عمل محلول هگزان را در آب به عنوان مثال ذکر می کنیم :

مولکولهای هگزان در محیط آبی ، فضایی را به صورت یک حفره اشغال می کنند . تشکیل این حفره در ابتدای امر نامتناسب به نظر می رسد زیرا برای به وجود آمدن این حفره بایستی پیوندهای هیدروژنی بین مولکولهای آب بشکنند و از یکدیگر جدا شوند که این عمل مستلزم صرف مقدار معینی انرژی است . ولی مولکولهای آبی که از یکدیگر جدا شده اند کوشش می کنند تا در اطراف حفره ها با تشکیل حدا کثر تعداد اتصالهای هیدروژنی جدید ، خود را با محیط تازه مطابقت دهند . لذا مولکولهای آب در اطراف حفره نظم و ترتیب بیشتری پیدا می کنند و یا به عبارت دیگر این عمل سبب کاهش انتروپی (ΔS) محلول می شود . از طرف دیگر مولکولهای هگزان در آب می توانند از یکدیگر جدا باشند و یا با هم اجتماع و حفره بزرگتری را یجاد کنند .

با توجه به مطالب فوق انرژی لازم برای تشکیل یک حفره واحد به مراتب کمتر از انرژی مصرفی برای تشکیل حفره های پراکنده و متعدد است . در اثر ادغام حفره ها و تشکیل یک حفره واحد تعدادی از مولکولهای آب که اطراف حفره های پراکنده را احاطه کرده بودند ، آزاد شده و باعث ازدیاد انتروپی محلول می شوند . در

حقیقت همیشه افزودن یک ماده هیدروفوبیک به آب با ازدیاد انتروپی همراه خواهد بود . به عبارت دیگر میل ترکیبی مولکولهای آبگریز و تجمع آنها به خاطر میل ترکیبی آنها با یکدیگر نیست ، بلکه علت اصلی آن نیروی ، جاذبه قوی موجود بین مولکولهای آب است که باعث رانده شدن و تجمع آنها با یکدیگر می شوند .

اسیدهای نوکلئیک

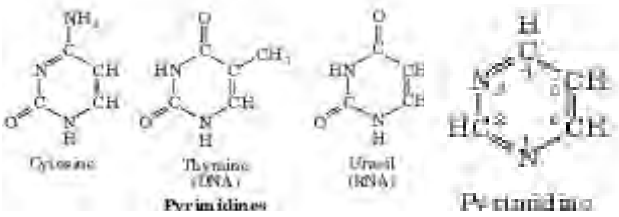
همانند پروتئینها که اسیدهای آمینه سنگ بنا یا واحد تشکیل دهنده آنها محسوب می شوند اسیدهای نوکلئیک نیز از تکرار واحدهایی به نام نوکلئوتید به وجود می آیند . هر واحد نوکلئوتید از یک باز ازت دار ، یک قند پنج کربنی و یک یا چند مولکول فسفات تشکیل شده است . لذا به منظور درک ساختمان اسیدهای نوکلئیک بهتر است ابتدا هر یک از اجزای متشکله یک واحد نوکلئوتید را جداگانه مورد بررسی قرار دهیم و سپس به شرح نحوه پیوند این مولکولها به یکدیگر و ایجاد یک واحد نوکلئوتید پرداخته و در پایان نحوه اتصال واحدهای نوکلئوتید و تشکیل یک مولکول بزرگ اسید نوکلئیک را به تفصیل مورد گفتگو قرار دهیم .

بازهای ازت دار

بازهای ازت داری که در ساختمان نوکلئوتیدها به کار می روند بر دو نوع اند :

گروه اول بازهایی هستند که از مشتقات یک ماده هتروسیکلیک به نام پیریمیدین (Pyrimidine) محسوب شده و به نام بازهای پیریمیدین شناخته می شوند . اوراسیل (Uracil) و سیتوزین (Cytosine) از بازهای اصلی این گروه هستند که در ساختمان اسید ریبونوکلئیک یا RNA به کار می روند و تیمین (Thymine) نیز از جمله همین گروه است که فقط در ساختمان اسید دزوکسی ریبونوکلئیک یا DNA یافت می شود . برخی از بازهای متیل دار مانند ۵- متیل سیتوزین و سایر مشتقات پیریمیدین نیز گاه به گاه در ساختمان اسیدهای نوکلئیک مشاهده می شوند .

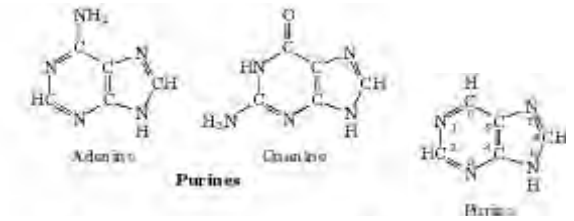
بازهای پیریمیدین نسبتاً در آب نامحلولند و به علت دارا بودن خاصیت قلیایی ضعیف در pH های متفاوت می توانند در دو شل توتومریک لاکتام (Lactam) و لاکتیم (Lactim) وجود داشته باشند .



گروه دوم بازهایی هستند که از مشتقات باز هتروسیکلیک پورین (Purine) به شماره رفته و به نام بازهای پورین شناخته می شوند . آدنین (Adenine) و گوانین (Guanine) از بازهای اصلی این گروه هستند که در ساختمان RNA و DNA هر دو به کار می روند .

اسیداوریک (Uric acid) ، گزانتین (Xanthine) ، هیپوگزانتین (Hypoxanthine) و دیگر مشتقات متیل دار پورین به مقدار ناچیز در طبیعت یافت می شوند .

از جمله ترکیبات پورین دار گیاهی می توان کافئین (Caffeine) یا ۱ ،۳ ،۷- تری متیل گزانتین و تئوبرومین (Theobromine) یا ۳، ۷- دی متیل گزانتین را نام برد که به مقدار کم در قهوه و چای وجود دارند و سبب تشدید و یا طولانی شدن اثر اپی نفرین می شوند .



قندهای پنج کربنی

قند پنج کربنی موجود در ساختمان RNA د ـ ریبوز و قند پنج کربنی موجود در ساختمان DNA د ـ ۲ـ دزوکسی ریبوز است . این دو قند در شکل فضایی فورانوز و از نوع بتا می باشند .

نوکلئوزیدها (Nucleosides)

نوکلئوزیدها حاصل ترکیب یک باز ازت دار با یک قند پنج کربنی هستند و نوع پیوند در این ترکیب از نوع بتا گلیکوزیدی است . ترکیب آدنین با ریبوز را آدنوزین (Adenosine) و ترکیب گوانین با ریبوز را گوانوزین (Guanosine) و مجموعه آدنین با دزوکسی ریبوز را دزوکسی آدنوزین می نامند .

اگر باز ازت دار از پیریمیدین ها باشد نوکلئوزیدی های حاصله را اوریدین (Uridine) ، سیتیدین (Cytidine) و تیمیدین (Thymidine) می نامند در حالی که ترکیب بازهای پیریمیدین با قند دزوکسی ریبوز منجر به تشکیل نوکلئوزیدهای دزوکسی اوریدین ، دزوکسی تیمیدین می شود . نوکلئوزیدها به مقدار بسیار جزئی در سلولها به طور آزاد یافت می شوند . نوکلئوزیدها از بازهای مربوطه در آب محلول تر می باشند . این مواد مانند گلیکوزیدها در سود پایدارند و علاوه بر آن نوکلئوزیدهای محتوی پیریمیدین در مقابل هیدرولیز اسیدی نیز مقاومند . ضمناً باید اضافه کرد که آنزیمهای نوکلئوزیداز قادر به هیدرولیز هر دو نوع نوکلئوزید می باشند .

نوکلئوتیدها (Nucleotides)

نوکلئوتیدها از استریفیه شدن نوکلئوزیدها با اسید فسفریک به دست می آیند . در این ترکیب حداقل یکی از گروههای هیدروکسیل متعلق به پنتوز موجود در نوکلئوزید با اسیدفسفریک استریفیه می شوند و در غالب موارد کربن شماره ۵ پنتوز است که در این پیوند استری شرکت و در حقیقت نوکلئوزید -′۵- فسفات و یا به طور کلی -′۵- نوکلئوتید تولید می کند .

اگر گروه هیدروکسیل کربن شماره ′۵ آدنوزین با اسید فسفریک استریفیه شود نوکلئوتیدی به نام آدنوزین -′۵- فسفات (AMP) یا اسید آدنیلیک به دست می آید که در pH طبیعی بدن (حدود ۷/۴) گروه فسفات آن غالباً به صورت یونیزه وجود دارد .

از ′۵- ریبونو کلئوتیدهای دیگر می توان گوانیلات (GMP) ، اوریدیلات (UMP) و سیتیدیلات (CMP) را نام برد و در مورد دزوکسی ریبونو کلئوتیدها نیز می توان دزوکسی آدنیلات (dAMP) ، دزوکسی گوانیلات (dGMP) و دزوکسی تیمیدیلات (dTMP) را ذکر کرد.

نوکلئوتیدها به طور آزاد در سلول یافت می شوند و به علت وجود حلقه پورین یا پیریمیدین در مولکول آنها نور ماورای بنفش را در طول موج ۲۶۰ تا ۲۸۰ نانومتر جذب می کنند که این خاصیت در تعیین مقدار آنها اهمیت فراوانی دارد . انواع نوکلئوتیدها را می توان با استفاده از کروماتوگرافی ستونی محتوی رزین های مبادله یونی به سهولت از

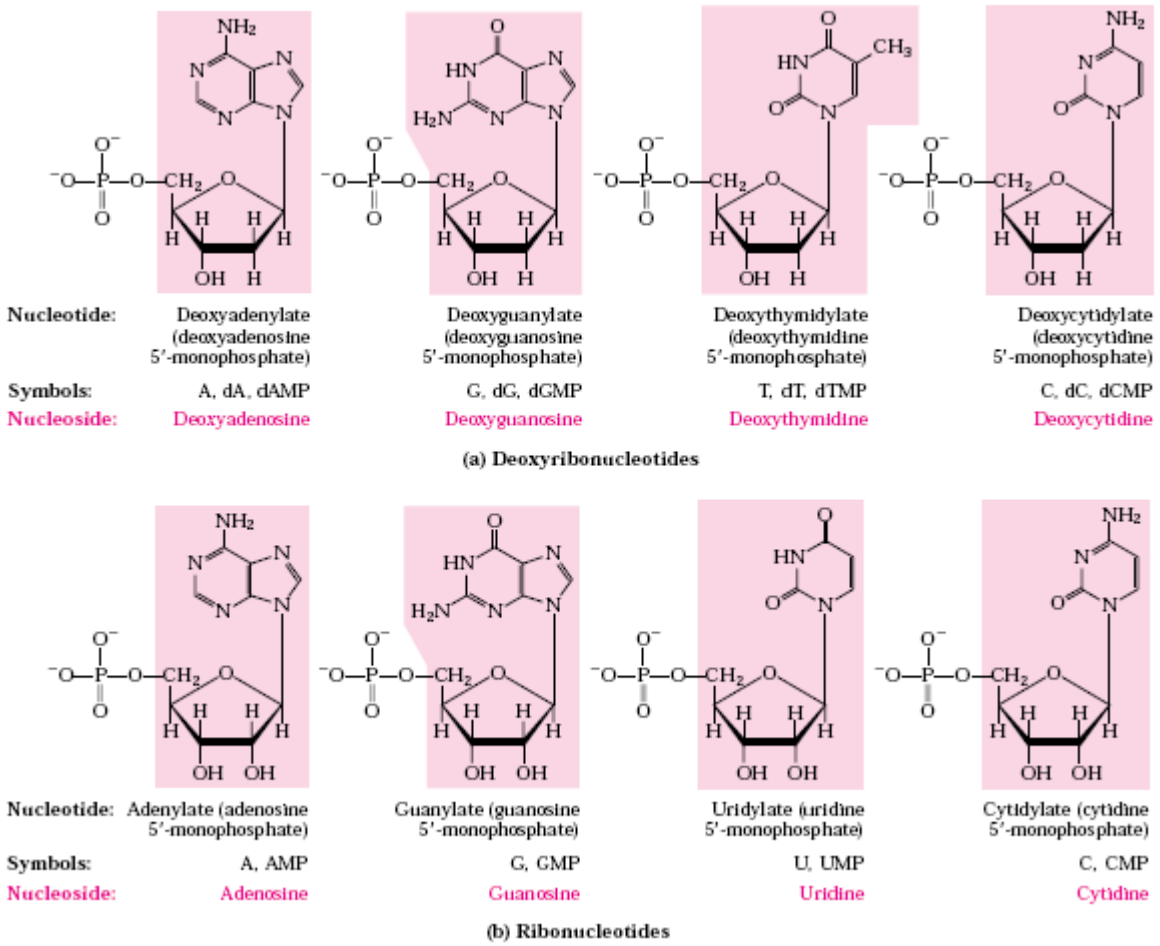
یکدیگر جدا کرد . نوکلئوتیدهای دی و تری فسفات در نقل و انتقال و ذخیره انرژی سلولی نقش حساسی را به عهده دارند .

نوکلئوتیدهای موجود در سلول نه تنها به صورت ′۵- منوفسفات بلکه به شکلهای ′۵- دی و تری فسفات نیز یافت می شوند که در این صورت برای هر نوع نوکلئوتید سه شکل مختلف ′۵- منوفسفات (NMP) ، ′۵- دی فسفات (NDP) و ′۵- تری فسفات (NTP) خواهیم داشت .

نوکلئوزیدهای ′۵- دی و تری فسفات که غالباً با حروف اختصاری NDP و NTP نشان می دهند از مواد اسیدی قوی محسوب می شوند و گروه اسید فسفریک آزاد آنها می تواند با یونهای دو ظرفیتی که دارای بار مثبت باشند مانند Mg^{2+} و Ca^{2+} ترکیب شوند . چون غلظت Mg^{2+} نیز در سیتوپلاسم سلولی زیاد است نوکلئوزیدهای ′۵- دی و تری فسفات در سلول به صورت مجموعه و ترکیبی با این یون یافت می شوند . آخرین گروه فسفات را در NDP و NTP می توان به طور انتخابی با استفاده از برخی از آنزیمها جدا کرد . علاوه بر آن گروههای فسفات بتا و گامای این دسته از نوکلئوتیدها را می توان به کمک حرارت دادن تا ۱۰۰ درجه سانتی گراد و به مدت هفت دقیقه در اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال هیدرولیز و از هم جدا کرد ولی باید دانست که گروه فسفات آلفا در تحت این شرایط کاملاً ثابت و غیرقابل هیدرولیز است . علائم اختصاری نوکلئوتیدهای موجود در سلول ، در جدول گردآوری شده است .

TABLE 8-1 Nucleotide and Nucleic Acid Nomenclature

Base	*Nucleoside*	*Nucleotide*	*Nucleic acid*
Purines			
Adenine	Adenosine	Adenylate	RNA
	Deoxyadenosine	Deoxyadenylate	DNA
Guanine	Guanosine	Guanylate	RNA
	Deoxyguanosine	Deoxyguanylate	DNA
Pyrimidines			
Cytosine	Cytidine	Cytidylate	RNA
	Deoxycytidine	Deoxycytidylate	DNA
Thymine	Thymidine or deoxythymidine	Thymidylate or deoxythymidylate	DNA
Uracil	Uridine	Uridylate	RNA



انواع دیگر نوکلئوتیدها

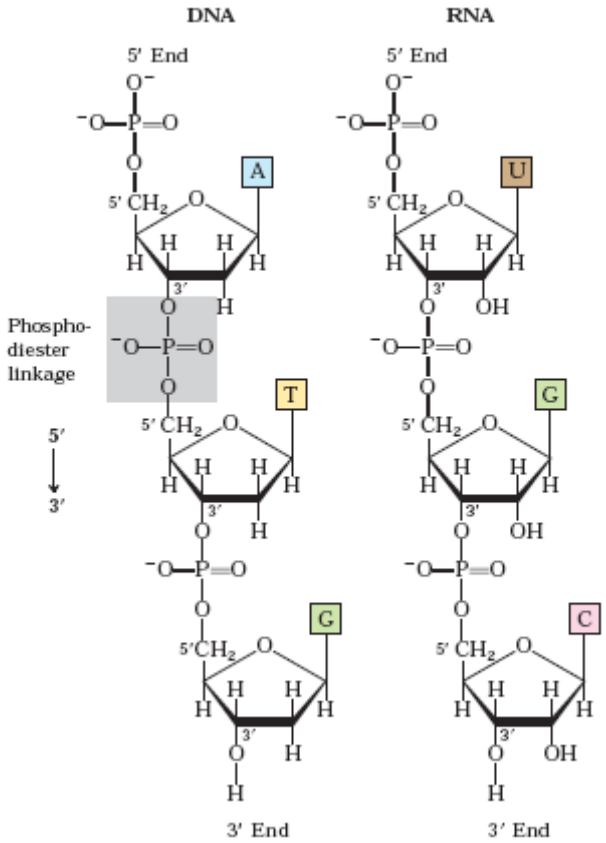
علاوه بر نوکلئوتیدهای ′۵- فسفات مذکور در جدول نوکلئوتیدهای دیگری هم یافت می شوند که گروه فسفات آنها به نقطه دیگری بجز کربن ′۵ قند پنج کربنی متصل است و در سلول نیز وظایف مهمی را به عهده دارند . از آن جمله می توان نوکلئوتیدهای ′۲ ، ′۳- فسفات حلقوی و نوکلئوتیدهای ′۳- فسفات که از مواد واسطه ای هیدرولیز انواع RNA می باشند را نام برد . آدنوزین منوفسفات حلقوی (Cyclic AMP) و گوانوزین منوفسفات حلقوی (Cyclic GMP) نیز از نوکلئوتیدهایی هستند که در مکانیسم اثر هورمون ها نقشهای حساسی را به عهده دارند . این نوکلئوتیدهای حلقوی از نوکلئوتیدهای تری فسفات توسط آنزیمهای سیکلاز (Cyclase) مربوط به دست می آیند . گوانوزین ′۵- دی فسفات ′۳- دی فسفات (PPGPP) و گوانوزین ′۵- تری فسفات ′۳- دی فسفات (PPPPGP) نیز که در تنظیم ژن ها حائز اهمیت بسیارند از نوکلئوتیدهای مهم بشمار می روند .

اسیدهای نوکلئیک

بطور کلی اسیدهای نوکلئیک را در دو گروه اسید دزوکسی ریبونوکلئیک (DNA) و اسید ریبونوکلئیک (RNA) طبقه بندی می کنند . DNA و RNA در خواص فیزیکی و شیمیایی دارای وجه اشتراک زیادی هستند و هر دو از اتصال واحدهای نوکلئوتید به وسیله پیوندهای فسفودی استر (Phosphodiester) به وجود می آیند ، ساختمان DNA و RNA و نوع اتصال نوکلئوتیدها در تصویر مشخص شده است .

نظر به این که اسیدهای نوکلئیک ماکرومولکولهایی هستند که از رشته های طولانی به وجود آمده اند .

در این شکل خطهای افقی زنجیر کربن قندهاست و خطهای مایل معرف پیوند فسفواستر ، از ′۳ به ′۵ بین دو نوکلئوتید است . بدین ترتیب نقطه اتصال خط مایل با خط افقی محل اتصال گروه فسفات به کربن ′۳ خواهد بود . علاوه بر روش فوق روش دیگری نیز توسط کمیته بین المللی بیوشیمی ارائه شده است که در آن توالی نوکلئوزیدها در مولکول RNA با حروف A برای آدنوزین ، U برای اوریدین ، G برای گوانوزین و C برای سیتیدین و توالی نوکلئوزیدها در مولکول DNA با حروف dC ، برای دزوکسی سیتیدین ، dG برای دزوکسی گوانوزین ، dT برای دزوکسی تیمین و dA برای دزوکسی آدنوزین مشخص می شوند . حرف کوچک p نشانه گروه فسفات و خط تیره بین دو نوکلئوزید معرف پیوند فسفودی استر است . اگر حرف p در سمت چپ نوکلئوزید نوشته شود نشانه اتصال فسفات به محل ′۵ و اگر p در سمت راست نوکلئوزید باشد دلیل بر استر شدن گروه فسفات به نقطه ′۳ می باشد . در این صورت تری نوکلئوتید موجود در شکل را می توان به شکل pApGpT و آدنوزین -′۳- فسفات را به شکل Ap نشان داد .



هیدرولیز اسیدهای نوکلئیک به وسیله اسیدها و بازها

هیدرولیز ملایم DNA در pH برابر ۳ سبب آزاد شدن تمام بازهای پورین می شود بدون اینکه روی بازهای پیریمیدین و یا پیوندهای فسفواستر اثری داشته باشد . DNA حاصل از این هیدرولیز که فاقد بازهای پورین است اسید آپورینیک (apurinic) نامیده می شود . تهیه اسیدهای آپیریمیدیک (apyrimidic) در شرایط دیگر انجام می گیرد .

مولکول DNA توسط قلیاهای رقیق هیدرولیز نمی شود ولی RNA به علت داشتن گروه هیدروکسیل در محلول سود رقیق هیدرولیز می شود و در نتیجه این عمل مخلوطی از نوکلئوزیدهای ′۲ و ′۳- فسفات به وجود می آید . نوکلئوزید

حلقوی ′۲ ، ′۳- منوفسفات اولین حاصل هیدرولیز RNA با سود رقیق است که در نتیجه هیدرولیز مجدد این جسم مخلوطی از ′۲- فسفات و ′۳- فسفات تولید می شود .

هیدرولیز اسیدهای نوکلئیک توسط آنزیمها

اسیدهای نوکلئیک در روده حیوانات تحت اثر نوکلئازهای موجود در شیره پانکراس هیدرولیز می شوند . پیوندهای فسفودی استر در DNA و RNA توسط دو نوع آنزیم a و b (′۳ و ′۵) مورد حمله قرار می گیرند .

آنزیم a یا آنزیم ′۳ پیوند استری بین کربن ′۳ و اسید فسفریک را هیدرولیز می کند در صورتی که آنزیم b یا آنزیم ′۵ پیوند استری بین اسید فسفریک و کربن ′۵ را می شکند . آنزیمهایی که فقط به انتهای زنجیر پلی نوکلئوتید حمله می کنند به نام اگزونوکلئازها (Exonucleases) شناخته شده اند . این آنزیمها برای ظاهر ساختن اثر خود نیازمند به یک گروه هیدروکسیل آزاد در محل ′۳ بر روی آخرین نوکلئوتید هستند و از همین نقطه نیز شکستن پیوندهای ′۳ را شروع کرده و در نتیجه نوکلئوتید ′۵- فسفات را آزاد می کنند . اندونو کلئازها (Endonucleases) احتیاج به گروه هیدروکسیل آزاد در محل ′۳ و ′۵ ندارند و در نتیجه بعضی از پیوندهای درونی ′۳ و یا ′۵ یک نوکلئوتید را هیدرولیز می کنند . در جدول تعدادی از نوکلئازها و چگونگی عمل آنها بر روی اسیدهای نوکلئیک مربوط نشان داده شده است .

ساختمان DNA

از مدتها قبل محققین بر این نکته آگاهی داشتند که مولکول DNA دارای ساختمان فضایی سه بعدی مخصوص بخود است . شواهد و دلایلی نیز برای اثبات این ادعا وجود دارد از جمله این که محلولهای DNA بسیار غلیظ و چسبناک می باشند و این ویژگی نشان می دهد که مولکولهای این ماده طویل نسبتاً سخت ، بهم پیچیده و فشرده هستند . به علاوه اگر محلول DNA تازه را به ملایمت حرارت دهیم در غلظت و چسبندگی و همچنین سایر خواص فیزیکی ، بدون اینکه در پیوندهای کووالان آن خللی وارد آید تغییراتی حاصل می شود . ولی مهمترین شاهد در مورد ساختمان فضایی DNA از تجربیات و آزمایشهای انجام یافته با روش انکسار اشعه ایکس به دست آمده است . با به کار بردن این روش محققین به این نتیجه رسیدند که در ساختمان مولکول سالم و دست نخورده DNA دو نوع تناوب وجود دارد که تناوب اصلی به فاصله ۰/۳۴ نانومتر و تناوب ثانوی به فاصله ۳/۴ نانومتر است .

در حقیقت می توان ساختمان DNA را به نردبانی تشبیه کرد که در حول یک محور فرضی در گردش است . پله های این نردبان را بازهای مکمل پورین و پیریمیدین تشکیل می دهند . فاصله هر پله از پله های پائینی و یا بالایی برابر ۰/۳۴ نانومتر (تناوب اصلی) است . به ازای هر ده پله ، چرخشی در مولکول پدید می آید که به نام تناوب ثانویه شناخته می شود و طول آن برابر ۳/۴ نانومتر است .

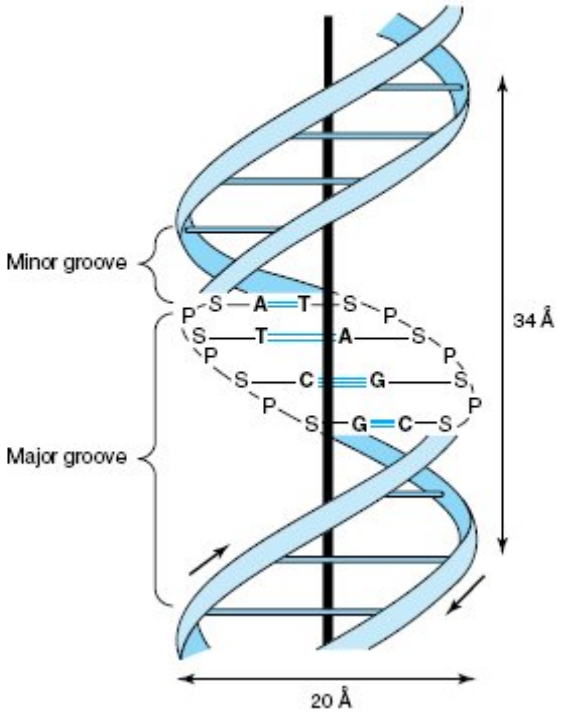
پس از کشف فوق ، مشکل محققین پیشنهاد یک ساختمان فضایی سه بعدی برای مولکول DNA بود که بتواند با تناوبهای فوق و همچنین با نسبتهای A/T و C/G مطابقت کند .

در سال ۱۹۵۳ واتسون و کریک مدلی برای ساختمان مولکول DNA تهیه کردند که با شواهد به دست آمده از اشعه ایکس و همچنین برابری بازهای متشکله آن تطبیق می کند . به علاوه این مدل با بسیاری از مشاهدات مربوط به خواص فیزیکی و شیمیایی DNA هماهنگ است و با مکانیزم انتقال خواص و فرامین ارثی توسط DNA نیز تطبیق می کند .

مدل واتسون و کریک از دو رشته پلی نوکلئوتید تشکیل شده است که از طرف راست و موازی یکدیگر در حول یک محور عمودی پیچ خورده و در حقیقت یک مارپیچ مضاعف را به وجود می آورند . این دو رشته یا زنجیر موازی ولی خلاف جهت یکدیگر و پیوندهای بین مولکولهای نوکلئوتید فسفودی استر آنها در جهت خلاف یکدیگر برقرار شده اند . بازهای پورین و پیریمیدین این دو رشته در طرف داخل مارپیچ عمود بر محور مارپیچ و در یک سطح قرار گرفته اند . بازهای یک زنجیر با بازهای مکمل خود ، در زنجیر دیگر در یک سطح قرار گرفته و به وسیله پیوندهای هیدروژنی به یکدیگر متصل می شوند . بدین ترتیب باز آدنین یک رشته به تیمین (A-T) رشته دیگر و گوانین زنجیر دوم با سیتوزین زنجیر اول (G-C) پیوند و جفت می شوند ، و بهمین جهت است که تعداد این بازها در ساختمان DNA کاملاً برابر یکدیگرند .

با توجه به مطالب فوق به این نتیجه می رسیم که مدل واتسون و کریک لزوماً دارای مشخصات زیر خواهد بود :

۱. دو رشته پلی نوکلئوتید در اطراف محور مشترکی پیچیده و یک مارپیچ مضاعف را به وجود می آورند . دو زنجیر این مارپیچ از نظر ساختمانی مکمل یکدیگرند لکن جهت آنها متفاوت است .
۲. بازهای پورین و پیریمیدین در داخل مارپیچ واقع شده اند ، در حالی که گروه فسفات و قند دزوکسی ریبوز به طرف خارج متمایل هستند به طوری که سطح بازهای هتروسیکلیک عمود بر محور مارپیچ و حلقه فورانوز تقریباً عمود بر سطح بازها قرار گرفته اند .
۳. قطر مارپیچ ۲ نانومتر و فاصله هر دو باز مجاور برابر با ۰/۳۴ نانومتر با زاویه ۳۶ درجه است و در یک در کامل مارپیچ تعداد ۱۰ باز قرار گرفته اند .
۴. دو رشته به وسیله اتصالهای هیدروژنی به یکدیگر متصل شده اند .
۵. ترتیب قرار گرفتن بازها در یک زنجیر پلی نوکلئوتید به هیچ وجه شکل معین و خاصی ندارد و تنها به فرامین ارثی بستگی دارد .



برخی از خواص فیزیکی DNA

رشته های مارپیچ DNA تا حدودی مقاوم است ولی حرارت و تغییر pH محیط می توانند موجب تقلیب و گسستن پیوندهای هیدروژنی بین دو زنجیر شوند که حاصل آن جدا شدن رشته ها و تقلیل وزن مولکولی DNA به نصف خواهد بود . علاوه بر آن تقلیب ، ویسکوزیته یا چسبندگی و قوه چرخش نور مولکول DNA را کاهش می دهد و در عوض قدرت جذب نور ماورای بنفش مولکول DNA را در طول موج ۲۶۰ نانومتر افزایش می دهد . این افزایش جذب نور ماورای بنفش را اثر هیپرکرومیک می نامند . باید دانست که تحت شرایط مناسب این عمل برگشت پذیر است و می توان DNA اولیه را به دست آورد (رناتوره شدن). این عمل فقط برای مولکولهای DNA که از یک منبع به دست آمده و دو رشته آن مکمل یکدیگر باشند انجام پذیر است .

لازم است بخاطر داشت که در سلولهای پروکاریوتیک یا بدون هسته که فقط دارای یک کروموزوم هستند ، تقریباً تمام DNA سلول به صورت یک رشته مارپیچ مضاعف وجود دارد که وزن مولکولی آن گاهی به بیش از $۲*۱۰^{۹}$ دالتون بالغ می شود . برعکس در سلولهای حقیقی یا هسته دار که محتوی چندین کروموزوم می باشند ، بمراتب تعداد زیادتری از مولکولهای DNA یافت می شوند . در باکتریها مولکول DNA تقریباً یک درصد وزن سلول را تشکیل می دهد و در بخشی از سلول که منطقه هسته ای نامیده می شود وجود دارد . این منطقه هسته ای در غالب موارد فقط با یک نقطه اتصال به قسمتی از چین خوردگی غشای سلول که به داخل سلول پیشروی کرده و مزوزوم (Mesosome) نامیده می شود متصل است . در باکتریها هیچگاه مولکولهای DNA با پروتئین همراه نیستند و در غالب اوقات مولکولهای کوچک DNA در خارج از کروموزومها و در سیتوپلاسم سلول نیز دیده می شوند . این قبیل مولکولهای DNA که فقط حاوی چند ژن هستند و در مقایسه با DNA کروموزومها بسیار ناچیزند پلاسمید (Plasmid) یا اپیزوم (Episome) نامیده می شوند .

در سلولهایی که دارای کروموزومهای جفتی و هسته دار نیز هستند ، چندین کروموزوم وجود دارد که دارای تعداد زیادی از مولکولهای DNA می باشند و تقریباً تمام آنها نیز در هسته متمرکزند و با پیوندهای یونی به پروتئینهای قلیایی به نام هیستون متصل می باشند . سلولهای دیپلوئید اوکاریوتیک علاوه بر DNA هسته ای ، دارای مقدار ناچیزی DNA در میتوکندری (mtDNA) هستند که از نظر توالی و ترتیب بازها و وزن مولکولی با DNA هسته ای به کلی متفاوت است . وزن مولکولی DNA موجود در میتوکندری در حدود ده میلیون و فقط ۰/۱ تا ۰/۲ درصد کل DNA سلول را تشکیل می دهد .

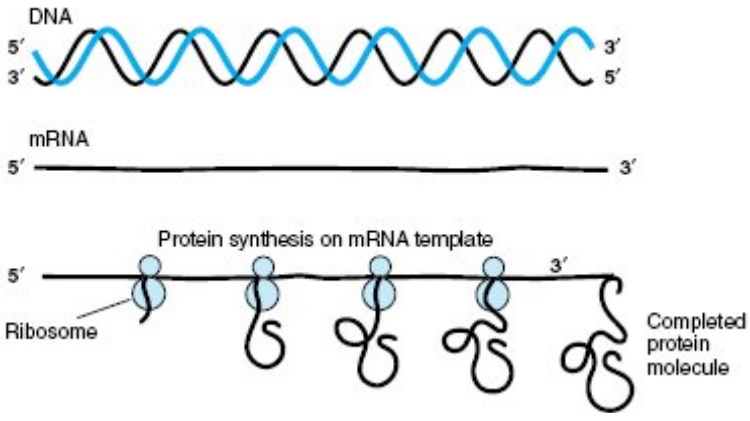
ساختمان RNA

در باکتریها بیشترین مقدار RNA در سیتوپلاسم سلول یافت می شود . در سلولهای هسته دار یا اوکاریوت RNA به اشکال مختلف و به طور منتشر در محیط داخلی سلول وجود دارد . مثلاً در سلولهای کبدی تقریباً ۱۱ درصد RNA در هسته ، ۱۵ درصد آن در میتوکندری ، بیش از ۵۰ درصد در ریبوزومها و بالاخره ۲۴ درصد باقیمانده را در سیتوزول (Cytosol) یا بخش محلول سیتوپلاسم می توان یافت . مقداری RNA نیز (همانند DNA) در میتوکندری یافت می شود که از نظر ساختمانی از RNA های موجود در خارج از آن متفاوت است . همچنین مقداری RNA در تعدادی از ویروسها نیز مشاهده شده است که بعداً مورد بحث قرار خواهد گرفت . در زیر به شرح هر یک از انواع RNA می پردازیم :

RNA پیک یا m RNA

این نوع RNA محتوی چهار بازه اصلی آدنین ، گوانین ، سیتوزین و اوراسیل است و در هسته سلول توسط یک سری واکنشهای آنزیمی که اصطلاحاً رونویسی نامیده می شود با استفاده از DNA کروموزومی به عنوان الگو ساخته می شود . این نوع RNA به نام mRNA شناخته می شود که بازهای موجود در آن مکمل بازهای قسمتی از یک رشته مارپیچ مضاعف DNA یا DNA الگو می باشند . مقدار ناچیزی از mRNA نیز در میتوکندری تهیه می شود که با mRNA فوق متفاوت است .

mRNA پس از ساخته شدن از هسته خارج و وارد سیتوپلاسم سلول می شود و سپس به منظور بیوسنتز پروتئینها به ریبوزومها منتقل می شود . هر یک از مولکولهای mRNA حامل رمز یا کد (code) ویژه بیوسنتز یک یا چند نوع پروتئین هستند . بدین ترتیب مشاهده می شود که هر سلول محتوی چند صد نوع mRNA با اشکال و اوزان مولکولی متفاوت اند و لذا تشخیص و تفکیک این مولکولها از یکدیگر کار بسیار دشواری است .



RNA ناقل یا tRNA

اسیدریبونوکلئیکهای ناقل ، مولکولهای کوچکی هستند که به عنوان ناقل اسیدهای آمینه در سیتوپلاسم سلولی عمل می کنند . هر اسید آمینه حداقل دارای یک tRNA ویژه می باشد ، ولی برخی از این اسیدها ممکن است دو یا چند tRNA داشته باشند . مثلاً در سلولهای مخمر ، برای اسیدهای آمینه لوسین و سرین تعداد پنج و برای گلیسین و لیزین تعداد چهار نوع tRNA وجود دارند .

علاوه بر چهار باز اصلی پورین و پیریمیدین ، اسیدهای ریبونوکلئیک ناقل دارای تعداد زیادی از بازهای غیرمعمول و نادر نیز هستند .

ضمناً گاه بگاه بعضی از نوکلئوتیدهای غیر طبیعی ، مانند اسید پسودواوریدیلیک (Paseudouridylic acid) و اسید ریبوتیمیدیلیک (Ribothymidylic acid) نیز در ساختمان این نوع اسیدهای نوکلئیک مشاهده می شوند .

تا کنون بیش از ۵۰ نوع tRNA مورد مطالعه قرار گرفته و توالی کامل بازهای آنها به طور دقیق مشخص شده است . برابر شواهد موجود ، مولکول tRNA از ۷۳ الی ۹۳ واحد نوکلئوتید تشکیل می شود و متوسط وزن مولکولی آن در حدود ۲۵۰۰۰ است . از نظر ساختمانی مولکول tRNA سه بعدی و دارای ساختمان فضایی معینی است ، در اثر حرارت تقلیب حاصل شده و میزان جذب نور آن در طول موج ۲۶۰ نانومتری افزایش می یابد (اثر هیپرکرومیک) که دلیل بر وجود انحنا در رشته tRNA است ، در حقیقت ۶۰ تا ۷۰ درصد ساختمان tRNA به علت خم شدن رشته بر روی خودش و تشکیل بازهای مکمل ، به صورت مارپیچ مضاعف درآمده و به نظر می رسد که این نوع ساختمان برای فعالیت بیولوژیکی tRNA لازم است و در صورت باز شدن مارپیچ فعالیت بیولوژیکی آن نیز از بین خواهد رفت . هر چند که tRNA های مختلف دارای تعداد نوکلئوتیدهای متفاوت می باشند ولی ساختمان دو بعدی تمامی آنها شبیه برگ شبدر است که سبب می شود تعداد بازهای زوج شده این مولکول به حداکثر خود برسد . tRNA معمولاً دارای چهار بازو هستند ولی بعضی از tRNA ها که تعداد بازهای آنها بیشتر است قادر به تشکیل بازوی پنجمی نیز هستند .

بررسی توالی بازها نکات مهمی را در مورد tRNA آشکار کرده است . تمام مولکولهای tRNA دارای ردیف بازهای -C-C-A در انتهای ′۳ یا انتهای قبول کننده اسید آمینه خود هستند و آخرین نوکلئوتید (A) یا به عبارت دیگر اسید آدنیلیک ، محل استریفیه شدن اسید آمینه مربوطه توسط آنزیم آمینو اسیل سنتتاز است . در بازوی TψC یک مولکول پسودواوریدین و در بازوی DHU یک مولکول دی هیدرواوریدین وجود دارد . بازوی آنتی کدن دارای سه نوکلئوزید متوالی یا سه گانه است که برای هر یک از اسیدهای آمینه متفاوت و مخصوص همان اسید آمینه است . این سه نوکلئوزید متوالی یا سه گانه را آنتی کدن (Anticodon) می نامند که مکمل سه نوکلئوزید متوالی کدن یا رمز سه گانه موجود در mRNA است .

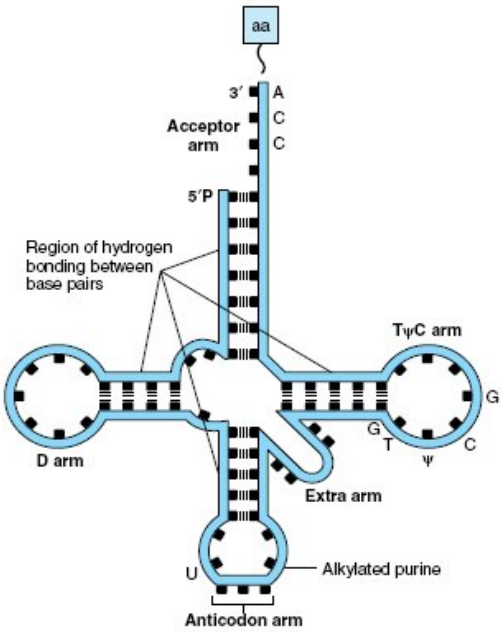
سه باز متوالی آنتی کدن در tRNA طوری انتخاب شده اند که دارای توالی صحیح برای تشکیل پیوندهای هیدروژنی با سه باز متوالی کدن در mRNA باشند و به این صورت در رشته پلی پپتیدی که در حال سنتز و طولانی شدن است ، اسید آمینه مورد نظر انتخاب شده و در محل صحیح خود قرار داده می شود . در آنتی کدن یا رمز سه گانه که در tRNA قرار دارد معمولاً دو باز اول بازهای اصلی هستند و مشخص کننده نوع اسید آمینه می باشند ، در صورتی که سومین باز که در انتهای ′۵ واقع شده ممکن است متفاوت و از نظر اهمیت و ویژگی عمل چندان نقش مهمی را به

عهده نداشته باشد که به نام باز متغیر شناخته می شود . برای نمونه می توان آنتی کدن مربوط به اسید آمینه آلانین (CGI) را نام برد .

این tRNA می تواند کدن های GCU, GCC و یا GCA را شناسایی کند . این پدیده بیانگر آن است که باز I در آنتی کدن آلانین با بازهای C,U و یا A مکمل هستند و می توانند تشکیل پیوند هیدروژنی بدهند . به این ترتیب دو باز اول را بازهای اصلی و باز سوم (C,U و یا A) را که در انتهای ′۳ قرار دارد باز متغیر می نامند .

tRNA علاوه بر مشخصات فوق باید حداقل دارای ۲ ویژگی دیگر نیز باشد . یکی از این ویژگیها محل شناسایی آنزیم است که به وسیله آن آنزیم را شناخته و به آن متصل می شود و دیگری محل اتصال به ریبوزومهاست که آمینواسیل ـ tRNA (مجموعه اسیدآمینه با tRNA مربوط) بعد از شناسایی آن بر روی ریبوزوم قرار می گیرد .

از مشخصات دیگر مولکول tRNA وجود بازهای نادر است که معمولی ترین آنها بازهای متیله هستند . آنزیم متیله کننده که برای انجام عمل خود نیاز به S– آدنوزیل متیونین دارد توسط ئی.بورک کشف شده است . این بازهای متیله می توانند باعث تشکیل بازوها شده و یا از زوج شدن بازها با یکدیگر ، زوج شدن بازها با mRNA و بالاخره هیدرولیز tRNA توسط نوکلئازها ممانعت به عمل آورند .



RNA ریبوزومها یا rRNA

شصت و پنج درصد وزن ریبوزومها را RNA ریبوزومها تشکیل می دهد . در باکتری ایشریشیاکلی اسیدریبونوکلئیک ریبوزومها به صورت تک رشته ای و دارای ساختمانی زنجیری است که در سه شکل مختلف ۵S ، ۱۶S و ۲۳S وجود دارند . این سه شکل در نسبت و توالی بازها با هم متفاوت اند . در سلولهای هسته دار که ریبوزومهای آنها بزرگتر از سلولهای بدون هسته است چهارنوع rRNA به شکلهای ۵S ، ۷S ، ۱۸S و ۲۸ S می توان یافت که قابل جداکردن از یکدیگرند . با وجودی که rRNA قسمت عمده RNA سلولی را تشکیل می دهد ، عمل آن هنوز به درستی در ریبوزومها روشن نشده است .

ریبوزومها

ریبوزومها ذرات ریبوکلئوپروتئین هستند که در تمام سلولها وجود دارد و در بیوسنتز پروتئینها اهمیت بسزایی دارند . ریبوزومهای سلولی بدون هسته دارای ۱۸ نانومتر قطر و ۲/۸ مگادالتون وزن و ضریب رسوب یا ته نشست ۷۰S می باشند . ریبوزومها محتوی ۶۰ الی ۶۵ درصد اسیدریبونوکلئیک (rRNA) و ۳۵ الی ۴۰ درصد پروتئین هستند . در باکتری ایشریشاکلی تقریباً تعداد ۱۵۰۰۰ ریبوزوم یافت می شود . ریبوزومهای موجود در سیتوپلاسم سلولهای هسته دار بزرگترند و اندازه آنها در ارگانیزمهای مختلف متفاوت است . قطر آنها ۲۰ الی ۲۲ نانومتر و ضریب ته نشست آنها ۷۳ الی ۸۰S می باشد . بیشتر ریبوزومها در سیتوپلاسم سلول به صورت آزاد و یا به صورت متصل به سطح شبکه آندوپلاسمیک مشاهده می شوند .

در سلولهای هسته دار ، ریبوزومها در میان هسته سلولی با میتوکندری و یا کلروپلاستها نیز مشاهده می شود . ریبوزومهای موجود در میتوکندری کوچکتر از ریبوزومهای سیتوپلاسمی هستند . در سلولهای اوکاریوت و پروکاریوت بدون استثنا ریبوزومها به صورت تسبیح بر روی مولکول mRNA قرار گرفته اند که پلی ریبوزوم (Polyribosome) یا پلی زوم (Polysome) نامیده می شوند . ریبوزومهای تمام سلولها از نظر ساختمانی مشابه هم و تمام آنها دارای دو قسمت غیرمساوی هستند .

در باکتری ایشریشاکلی ضریب ته نشست این دو قسمت به ترتیب ۳۰S و ۵۰ S وزن مولکولی آنها به ترتیب ۱ و ۱/۸ مگادالتون است .

قسمت ۵۰S ریبوزومها دارای یک بخش rRNA از نوع ۲۳S و یک مولکول rRNA از نوع ۵S بوده و همچنین قسمت ۳۰S آن دارای یک مولکول rRNA از نوع ۱۶ S است . هر دو قسمت ریبوزومها محتوی تعداد زیادی از زنجیرهای متفاوت پلی پپتیدی نیز هستند .

ریبوزومهای سلولهای اوکاریوت یا هسته دار محتوی مولکولهای بزرگ rRNA هستند و تعداد زنجیرهای پلی پپتیدی آنها نیز بیش از سلولهای پروکاریوت یا بدون هسته می باشند.

ساختمان و عمل ویتامین های محلول در آب

مقدمه

ویتامین ها مواد غذایی آلی هستند که مقادیر کمی از آنها برای اعمال بیوشیمیایی مختلف مورد نیاز بوده و به طور کلی در بدن سنتز نمی شوند و در نتیجه بایستی در رژیم غذایی به مقدار کافی وجود داشته باشند نخستین ویتامین های کشف شده یعنی ویتامین های A و B به ترتیب محلول در چربی و آب بودند . با کشف تعداد بیشتری از ویتامین ها ، نشان داده شده که این ترکیبات نیز یا محلول در چربی یا محلول در آب هستند و از این خاصیت برای تقسیم بندی این ترکیبات استفاده شد . ویتامین های محلول در آب همگی به صورت اعضای گروه کمپلکس B نامگذاری شدند (به استثناء ویتامین C) و ویتامین های محلول در چربی تازه کشف شده با نشانه های الفبایی مشخص شدند (مانند ویتامین های K,E,D) . ویتامین های محلول در آب بجز مشخصات مربوط به محلول بودن خود خصوصیات مشترک ناچیزی از نقطه نظر شیمیایی دارند .

Vitamin		Functions	Deficiency Disease
A	Retinol, β-carotene	Visual pigments in the retina; regulation of gene expression and cell differentiation; β-carotene is an antioxidant	Night blindness, xerophthalmia; keratinization of skin
D	Calciferol	Maintenance of calcium balance; enhances intestinal absorption of Ca^{2+} and mobilizes bone mineral	Rickets = poor mineralization of bone; osteomalacia = bone demineralization
E	Tocopherols, tocotrienols	Antioxidant, especially in cell membranes	Extremely rare—serious neurologic dysfunction
K	Phylloquinone, menaquinones	Coenzyme in formation of γ-carboxyglutamate in enzymes of blood clotting and bone matrix	Impaired blood clotting, hemorrhagic disease
B_1	Thiamin	Coenzyme in pyruvate and α–ketoglutarate, dehydrogenases, and transketolase; poorly defined function in nerve conduction	Peripheral nerve damage (beriberi) or central nervous system lesions (Wernicke-Korsakoff syndrome)
B_2	Riboflavin	Coenzyme in oxidation and reduction reactions; prosthetic group of flavoproteins	Lesions of corner of mouth, lips, and tongue; seborrheic dermatitis
Niacin	Nicotinic acid, nicotinamide	Coenzyme in oxidation and reduction reactions, functional part of NAD and NADP	Pellagra—photosensitive dermatitis, depressive psychosis
B_6	Pyridoxine, pyridoxal, pyridoxamine	Coenzyme in transamination and decarboxylation of amino acids and glycogen phosphorylase; role in steroid hormone action	Disorders of amino acid metabolism, convulsions
	Folic acid	Coenzyme in transfer of one-carbon fragments	Megaloblastic anemia
B_{12}	Cobalamin	Coenzyme in transfer of one-carbon fragments and metabolism of folic acid	Pernicious anemia = megaloblastic anemia with degeneration of the spinal cord
	Pantothenic acid	Functional part of CoA and acyl carrier protein: fatty acid synthesis and metabolism	
H	Biotin	Coenzyme in carboxylation reactions in gluconeogenesis and fatty acid synthesis	Impaired fat and carbohydrate metabolism, dermatitis
C	Ascorbic acid	Coenzyme in hydroxylation of proline and lysine in collagen synthesis; antioxidant; enhances absorption of iron	Scurvy—impaired wound healing, loss of dental cement, subcutaneous hemorrhage

انواع ویتامینهای موجود در بدن

اهمیت و کاربرد زیست پزشکی

فقدان یا کمبود نسبی ویتامین ها در رژیم غذایی منجر به حالات کمبود و بیماری های مشخص می شود کمبود یک ویتامین منفرد از گروه کمپلکس B عارضه نادری است ، زیرا رژیمهای غذایی نامناسب غالباً با حالات کمبود متعدد همراهند . با این حال ، سندرم های کمبود ویتامینی مربوط به مشخصات کمبود ویتامین های خاص هستند . در بین ویتامین های محلول در آب ، حالات کمبود زیر شناخته شده اند : بری بری (Beriberi کمبود تیامین) ، ترک خوردگی گوشه لب (cheilosis) ، التهاب زبان (glossitis) ، سبوره (seborrhea) و ترس از نور (photophobia) (کمبود ریبوفلاوین) ، پلاگر (pellagra) (کمبود نیاسین) ، نوریت محیطی (peripheral neuritis) (کمبود پریدوکسین) ، کمخونی مگالوبلاستیک (megaloblastic anemia) ، متیل مالونیک اسیدوری (methylmalonic aciduria) و کمخونی بدخیم مگالوبلاستیک (کمبود اسید فولیک) و اسکوروی (scurvy) (کمبود اسید آسکوربیک) برای اجتناب از حالات کمبود ویتامین باید مواد غذایی مختلف را به مقدار کافی مصرف کرد .

ویتامین های کمپلکس B ، کوفاکتورهای واکنش های آنزیمی هستند

ویتامین های B ضروری برای تغذیه انسان عبارتند از :

۱. تیامین (ویتامین B_1)
۲. ریبوفلاوین (ویتامین B_2)
۳. نیاسین (اسید نیکوتینیک ، نیکوتینامید) (ویتامین B_3)
۴. اسید پانتوتنیک (ویتامین B_5)
۵. ویتامین B_6 (پیریدوکسین ، پیریدوکسال ، پیریدوکسامین)
۶. بیوتین
۷. ویتامین B_2 (کوبالامین)
۸. اسید فولیک (پتروئیل گلوتامیک اسید) .

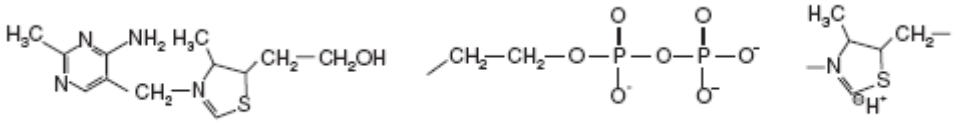
چون این ویتامین ها در آب محلولند ، مقادیر اضافی آنها از راه ادرار دفع شده و در نتیجه بندرت در حد مقادیر سمی در بدن تجمع می یابند . بنا به همین دلیل ، ذخیره سازی این ویتامین ها محدود بوده (به جز کوبالامین) و در نتیجه این ویتامین ها بایستی به طور منظم به بدن برسند .

تیامین (THIAMIN)

تیامین از یک پیریمیدین استخلافی تشکیل شده که توسط یک پل متیلنی به یک تیازول استخلافی متصل می شود .

تیامین فعال ، ترکیب تیامین دی فسفات است

یک آنزیم تیامین دی فسفو ترانسفراز وابسته به ATP که در مغز و کبد وجود دارد ، مسئول تبدیل تیامین به شکل فعال آن یعنی تیامین دی فسفات (پیروفسفات) است .



تیامین دی فسفات کوآنزیم واکنش های آنزیمی است که در آن یک واحد آلدئیدی فعال شده ، منتقل می شود

دو نوع از این واکنش ها وجود دارد :

۱. دکربوکسیلاسیون اکسیداتیو ، آلفا ـ کتو اسیدها (مانند آلفاکتوگلوتارات ، پیرووات و آنالوگ های آلفا ـ کتونی لوسین ، ایزولوسین و والین)

۲. واکنش های ترانس کتولاز (به عنوان مثال در مسیر پنتوزفسفات) تمام این واکنش های ترانس کتولاز (به عنوان مثال در مسیر پنتوز فسفات) تمام این واکنش ها در حالت کمبود تیامین مهار می شوند در هر مورد ، تیامین دی فسفات کربن فعالی در ساختمان تیازول تشکیل می دهد که به صورت کربانیون (Carbanion) در می آید .این ترکیب سپس می تواند به گروه کربونیل ترکیب مورد نظر (به عنوان مثال پیرووات) اضافه شود سپس ترکیب اضافه شده دکربوکسیله شده و CO_2 آزاد می شود . این واکنش در یک کمپلکس چند آنزیمی موسوم به کمپلکس پیرووات دهیدروژناز انجام می گیرد .

دکربوکسیلاسیون اکسیداتیو آلفاکتوگلوتارات و تبدیل آن به سوکسینیل CoA و CO_2 توسط یک کمپلکس آنزیمی کاتالیز می شود که از لحاظ ساختمانی مشابه کمپلکس پیرووات دهیدروژناز است . در اینجا نیز ، تیامین دی فسفات ترکیب کربانیون پایداری فراهم می کند که با کربن آلفا مربوط به آلفا ـ کتوگلوتارات واکنش انجام می دهد . در واکنش دکربوکسیلاسیون اکسیداتیو مشابهی مربوط به مشتقات آلفا ـ کتوکربوکسیلیک اسید ، اسیدهای آمینه شاخه دار از تیامین دی فسفات استفاده می شود . نقش تیامین دی فسفات به عنوان کوآنزیم واکنش های ترانس کتولاز مشابه آنچه در مورد واکنش های دکربوکسیلاسون اکسیداتیو شرح داده شد، می باشد .

فقدان تیامین باعث ایجاد بری بری و سندرم های کمبود وابسته به آن می شود

در افراد دچار کمبود تیامین ، واکنش های وابسته به تیامین دی فسفات انجام نشده و یا به شدت محدود می شوند در نتیجه سوبستراهای مربوط به این واکنش ها مانند پیرووات ، قندهای پنتوز و مشتقات آلفا ـ کتوکربوکسیلات مربوط به اسیدهای آمینه شاخه دار لوسین ، ایزولوسین و والین در بدن تجمع می یابند .

تیامین در تقریباً تمام بافتهای گیاهی و حیوانی که به طور معمول به عنوان غذا مصرف می شوند ، وجود دارد اما مقدار آن معمولاً در حد کمی است . دانه های غلات دارای سبوس و گوشت از منابع مناسب این ویتامین هستند . بری بری در اثر مصرف رژیم غذایی پرکربوهیدرات با مقدار کم تیامین ایجاد می شود به عنوان مثال می توان به مصرف برنج تصفیه شده یا سایر غذاهای کاملاً تصفیه شده مانند شکر و آرد سفید به عنوان منابع غذایی اصلی اشاره کرد . علائم

اولیه این عارضه شامل نوروپاتی محیطی ، خستگی و بی اشتهایی است و در اثر پیشرفت بیماری به ادم و دژنراسیون قلبی ـ عروقی ، عصبی و عضلانی منجر می شود .

انسفالوپاتی ورنیکه (Wernicke's encephalopathy)

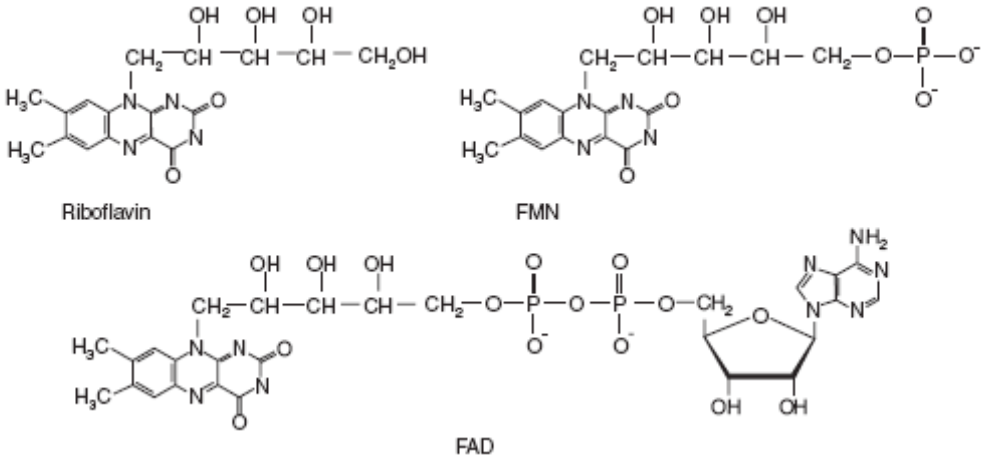
با کمبود تیامین ارتباط دارد این عارضه غالباً در افراد الکلیک مزمن که مقدار کمی از مواد غذایی دیگر مصرف می کنند ایجاد می شود . برخی از انواع ماهی خام دارای آنزیم حساس به حرارتی (تیامیناز) هستند که باعث تخریب تیامین می شود ، اما به نظر نمی رسد که این امر نقش مهمی در تغذیه انسان داشته باشد . برای اندازه گیری کمبود تیامین از فعالیت ترانس کتولاز گلبولهای قرمز استفاده می شود .

ریبوفلاوین (RIBOFLAVIN)

ریبوفلاوین از یک حلقه هتروسیکلیک ایزوآلوکسازین تشکیل شده که به الکل قندی موسوم به ریبیتول متصل شده است . این ترکیب یک پیگمان رنگی و فلوئورسان است که در برابر حرارت تا حدی پایدار بوده اما در حضور نور مرئی تجزیه می شود .

ریبوفلاوین فعال به صورت فلاوین منونوکلئوتید (FMN) یا فلاوین آدنین دی نوکلئوتید (FAD) است

FMN در اثر فسفوریلاسیون وابسته به ATP ریبوفلاوین تشکیل می شود در حالیکه FAD طی وکنش دیگری با ATP که در آن بخش AMP از مولکول ATP به FMN منتقل می شود ، ساخته می شود .



FMN و FAD به صورت گروه الحاقی آنزیم های اکسیدوردوکتاز عمل می کنند

این آنزیم ها رافلاووپروتئین (Flavoprotein) می نامند . گروه های الحاقی (prosthetic groups) معمولاً اتصال محکم (اما غیرکووالان) با آپو پرتئین های مربوط برقرار می کنند . بسیاری از آنزیم های فلاوو پروتئینی دارای یک یا چند فلز (مانند مولیبدن و آهن) به صورت کوفاکتورهای ضروری بوده و تحت عنوان متالوفلاو پروتئین ها (metalloflavoproteins) نامیده می شوند .

آنزیم های فلاوو پروتئینی انتشار گسترده ای داشته و در سیستم های اکسیدور دوکتاز مهم و متعددی در متابولیسم پستانداران دخالت دارند . به عنوان مثال می توان به موارد زیر اشاره کرد . آلفا ـ آمینو اسید اکسیداز در د ـ آمیناسیون اسیدهای آمینه ، گزانتین اکسیداز در تجزیه پورین ها ، آلدئید دهیدروژناز در تجزیه آلدئیدها ، گلیسرول ـ ۳ـ فسفات

دهیدروژناز متیوکندری در انتقال اکی والانهای احیا کننده از سیتوزول به داخل میتوکندری ، سوکسینات دهیدروژناز در چرخه اسیدسیتریک ، اسیل CoA دهیدروژناز و فلاووپروتئین ناقل الکترون در اکسیداسیون اسیدهای چرب و دی هیدرولیپوئیل دهیدروژناز در دکربوکسیلاسیون اکسیداتیو پیرووات و آلفا ـ کتوگلوتارات ، NADH دهیدروژناز یکی از اجزا اصلی زنجیره تنفسی در میتوکندریها است . تمام این سیستم های آنزیمی در کمبود ریبوفلاوین دچار اختلال می شوند . حلقه ایزوآلوکسازین فلاووپروتئین ها در نقش کوآنزیمی این ترکیبات ، به طور قابل برگشت احیا شده و اشکال احیا شده $FMNH_2$ و $FADH_2$ تولید می شود .

فقدان ریبوفلاوین باعث ایجاد یک سندرم کمبود کلی و غیرکشنده می شود.

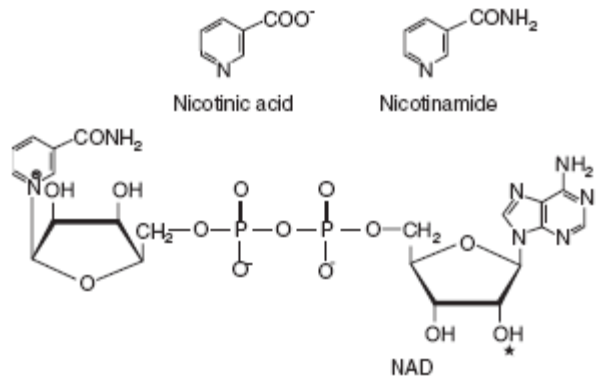
با توجه به اعمال متابولیک گسترده ریبوفلاوین ، جالب است که کمبود این ویتامین منجر به بیماریهای خطرناک و کشنده نمی شود با این حال ، در صورت کمبود این ویتامین علائم مختلفی از جمله التهاب زوایای دهان (angular stomatitis) ترک خوردگی گوشه لب ، التهاب زبان ، سبوره و ترس از نور (فتوفوبی) دیده می شود .

ریبوفلاوین توسط گیاهان و میکروارگانیسم ها سنتز می شود اما پستانداران قادر به این کار نیستند . مخمر ، جگر و کلیه از منابع خوب این ویتامین به شمار می روند . این ویتامین طی یک توالی از واکنش های فسفریلاسیون دفسفوریلاسیون در مخاط روده جذب می شود . هورمون ها (مانند هورمون تیروئید و ACTH) ، داروها (مانند کلرپرومازین که مهارکننده رقابتی است) به عوامل تغذیه ای بر تبدیل ریبوفلاوین به اشکال کوفاکتوری آن تأثیر می گذارند . به علت حساس بودن ریبوفلاوین به نور ، ممکن است در نوزادان مبتلا به افزایش بیلی روبین خون (هیپوبیلیروبینمی) که تحت درمان با روش فتوتراپی هستند ، کمبود ریبوفلاوین ایجاد شود .

نیاسین (NIACIN)

نیاسین یک نام ژنریک و کلی برای اسید نیکوتینیک و نیکوتینامید می باشد ، که هر یک از این دو ترکیب می توانند به صورت منبع و ویتامین در رژیم غذایی عمل کند . اسید نیکوتینیک یک مشتق اسید منوکربوکسیلیک از پیریدین است .

نیاسین فعال به صورت نیکوتینامید آدنین دی نوکلئوتید (NAD^+) و نیکوتینامید آدنین دی نوکلئوتید فسفات ($NADP^+$) است .



نیکوتینات شکلی از نیاسین است که برای سنتز NAD^+ و $NADP^+$ توسط آنزیم هایی که در سیتوزول اکثر سلول ها وجود دارند ، مورد نیاز است . بنابراین نیکوتینامید موجود در رژیم غذایی ابتدا گروه آمیدی خود را از دست داده به نیکوتینات تبدیل می شود . نیکوتینات در سیتوزول ابتدا با ۵- فسفوریبوزیل ۱- پیروفسفات (PRPP) واکنش انجام

داده و سپس توسط ATP آدنیله می شود و به دزدآمیدو ـ NAD^+ (Desamido ـ NAD^+) تبدیل می گردد سپس با استفاده از گروه گلوتامین کوآنزیم NAD^+ تشکیل می شود با فسفوریلاسیون این ترکیب ، $NADP^+$ به دست می آید.

NAD^+ و $NADP^+$ کوآنزیم بسیاری از آنزیم های اکسید و رودوکتاز هستند.

نوکلئوتیدهای نیکوتینامید نقش گسترده ای به عنوان کوآنزیم بسیاری از آنزیم های دهیدروژناز که در سیتوزول (مانند مالات دهیدروژناز) جای دارند ، به عهده دارد بنابراین ، این ترکیبات از اجزا مهم بسیاری از مسیرهای متابولیک که بر متابولیسم کربوهیدرات ها ، لیپیدها و اسیدهای آمینه تأثیر می گذارند ، هستند . به طور کلی ، دهیدروژنازهای وابسته به NAD واکنش های اکسیداسیون و احیا را در مسیرهای اکسیداتیو (مانند چرخه اسیدسیتریک) کاتالیز می کنند ، در حالی که دهیدروژنازها یا ردوکتازهای وابسته به NADP غالباً در مسیرهایی یافت می شوند که مربوط به سنتزهای احیایی (مانند مسیرپنتوزفسفات) هستند .

مکانیسم اکسیداسیون و احیا به صورت اضافه شدن قابل برگشت یون هیدرید (H^-) به حلقه پیریدین همراه با تولید یک یون هیدروژن آزاد (H^+) است .

فقدان نیاسین باعث ایجاد سندرم کمبودی موسوم به پلاگر می شود .

علائم این سندرم عبارتند از کاهش وزن ، اختلالات گوارشی ، درماتیت ، افسردگی و دمانس.

نیاسین به طور گسترده در اکثر غذاهای حیوانی و گیاهی وجود دارد با این حال ، در ارزیابی ارزش نیاسینی یک ماده غذایی بایستی توجه داشت که اسید آمینه ضروری تریپتوفان می تواند به NAD^+ تبدیل شود . ازاء هر ۶۰ میلیگرم تریپتوفان ، معادل یک میلیگرم نیاسین تولید می شود به این ترتیب ، برای بروز حالات کمبود نیاسین ، بایستی رژیم غذایی از لحاظ نیاسین موجود و تریپتوفان دچار کمبود باشد . این حالت در افرادی روی می دهد که غذای اصلی آنها ذرت (maiz corn) است و در نتیجه بیماری پلاگر (pellagra) در آنان ایجاد می شود . در واقع نیاسین در ذرت وجود دارد اما به شکل متصل و غیرقابل دسترس یعنی نیاسیتین (niacytin) است و برای آزاد شدن نیاسین از آن بایستی این ترکیب قبلاً تحت تأثیر مواد غذایی قرار گیرد . وابسته بودن رژیم غذایی به ذرت خوشه ای (sorghum) نیز باعث ایجاد پلاگر می شود و علت این امر کمبود تریپتوفان در این ماده غذایی نیست بلکه مقدار زیاد لوسین موجود در آن است . ظاهراً ، مقادیر اضافی لوسین در رژیم غذایی از طریق مهار آنزیم کینولینات فسفوریبوزیل ترانسفراز که آنزیم مهمی در تبدیل تریپتوفان به NAD^+ است ، باعث کمبود نیاسین می شود همچنین بایستی توجه داشت که پیریدوکسال فسفات یعنی شکل فعال ویتامین B_6 ، به عنوان کوفاکتور در مسیر سنتز NAD^+ از تریپتوفان دخالت دارد و در نتیجه کمبود ویتامین B_6 می تواند باعث تشدید کمبود نیاسین شود .

سایر حالاتی که منجر به بروز علائم پلاگر می شوند عبارتند از تجویز برخی از داروها مانند ایزونیازید ، سندرم کارسینوئید بدخیم که در آن متابولیسم تریپتوفان به سمت تولید سروتونین منحرف می شود و بیماری Hartnup در آن جذب تریپتوفان مختل شده است .

از اسید نیکوتینیک (اما نه نیکوتینامید) برای درمان و کاهش کلسترول پلاسما استفاده شده است . علت این امر مربوط به مهار جریان FFA از بافت چربی است که منجر به کاهش تولید لیپو پروتئینهای حاوی کلسترول یعنی , IDL VLDL و LDL می شود .

اسیدپانتوتنیک (PANTOTHENIC ACID)

اسیدپانتوتنیک از ترکیب اسیدپانتوئیک و بتا ـ آلانین به دست می آید .

اسیدپانتوتنیک فعال به صورت کوآنزیم A(CoA) و پروتئین حامل اسیل (ACP) است .

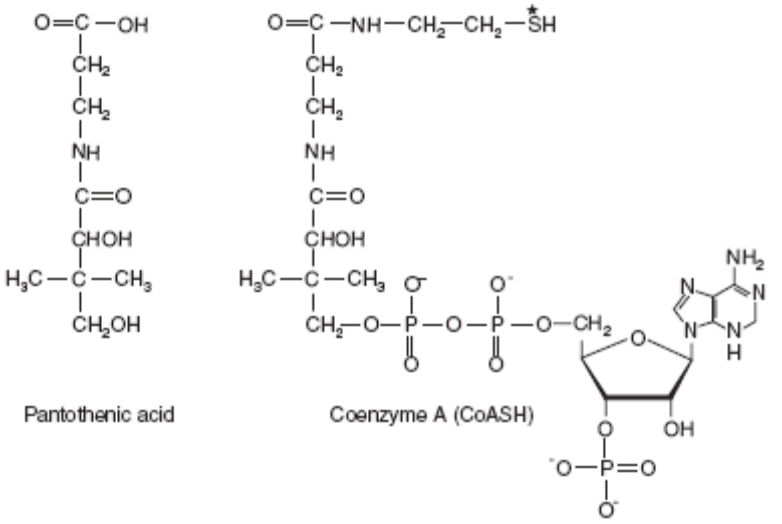
اسید پانتوتنیک به راحتی از روده جذب شده و توسط ATP فسفوریله می شود تا به ۴- فسفوپانتونتات تبدیل شود . با اضافه شدن سیستئین و خارج شدن گروه کربوکسیل از ساختمان آن در واقع یک گره تیواتانول آمین به آن اضافه شده و ترکیب ۴- فسفوپانتتئین به دست می آید که گروه الحاقی حاوی CoA و ACP می باشد . CoA همانند کوآنزیم فعال بسیاری دیگر از ویتامین های محلول در آب دارای یک نوکلئوتی آدنین است . به این ترتیب ، ۴- فسفوپانتتئین توسط ATP آدنیله می شود تا ترکیب دفسفو CoA به دست آید . مرحله فسفوریلاسیون نهایی توسط ATP انجام می گیرد و گروه فسفات به گروه ۳- هیدروکسیل مولکول ریبوز اضافه شده و ترکیب CoA به دست می اید .

گروه تیول به صورت حامل ریشه های اسیل در CoA و ACP عمل می کند.

این عمل در CoA در واکنش های چرخه اسیدسیتریک اکسیداسیون و سنتز اسیدهای چرب واکنش های استیلاسیون و سنتز کلسترول انجام می گیرد . ACP در واکنش های مربوط به سنتز اسیدهای چرب شرکت می کند معمولاً ساختمان کوآنزیم A آزاد (یعنی احیا شده) را به صورت اختصاری به شکل CoA –SH نشان می دهند که در آن وجود گروه SH فعال در ساختمان کوآنزیم مشخص شده است .

کمبود اسید پانتوتنیک عارضه نادری است

علت این امر آن است که این ویتامین به طور گسترده در مواد غذایی وجود داشته و به خصوص به مقدار فراوان در نسوج حیوانی ، غلات کامل و دارای سبوس و بقولات یافت می شود با این حال ، سندرم پای سوزان به کمبود پانتوتنات در زندانیان جنگی نسبت داده شده و با کاهش ظرفیت استیلاسیون ارتباط دارد .

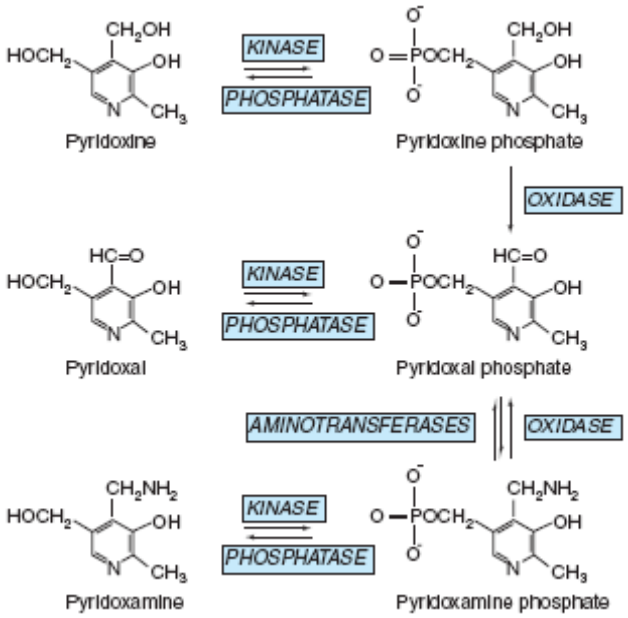


ویتامین B_6 (VITAMIN B_6)

ویتامین B_6 شامل سه ترکیب مشتق از پیریدین که ارتباط نزدیکی با یکدیگر دارند یعنی پیریدوکسین (Pyridoxine) ، پیریدوکسال (pyridoxal) و پیریدوکسامین (pyridoxamine) و ترکیبات فسفات مربوط به آنها می باشد از بین این ترکیبات ، پیریدوکسین ، پیریدوکسال فسفات و پیریدوکسامین فسفات بخش عمده ویتامین موجود در رژیم غذایی را تشکیل می دهند . فعالیت ویتامینی هر سه ترکیب فوق معادل یکدیگر است .

شکل فعال ویتامین B_6 به صورت پیریدوکسال فسفات است

تمام اشکال ویتامین B_6 از روده جذب می شوند اما مقداری از روندهیدرولیزاسترهای فسفات طی فرآیند هضم مواد غذایی انجام می گیرد . پیریدوکسال فسفات شکل اصلی ویتامین است که در پلاسما منتقل می شود . اکثر نسوج دارای آنزیم پیریدوکسال کیناز هستند که می تواند اشکال غیرفسفوریله ویتامین را توسط ATP به استرهای فسفات مربوط فسفوریله کند هر چند پیریدوکسال فسفات کوآنزیم اصلی دارای فعالیت ویتامین B_6 است ، پیریدوکسامین فسفات نیز می تواند به صورت یک کوآنزیم فعال عمل کند .



انواع فرمهای ویتامین B6

پیریدوکسال فسفات کوآنزیم بسیاری از آنزیم ها در متابولیسم اسیدهای آمینه است .

پیریدوکسال فسفات از طریق ورود به ترکیب باز شیف (Schiff base) بین گروه آلدئیدی خود و گروه آمینی یک آلفا ـ آمینواسید تغییرات ۳ پیوند باقی مانده از کربن آلفا ـ آمینی را تسهیل می کند و به ترتیب واکنش های ترانس آمیناسیون ، دکربوکسیلاسیون یا فعالیت ترئوزین آلدولاز انجام می گیرد . نقش پیریدوکسال فسفات در واکنش ترانس آمیناسیون نشان داده شده است .

پیریدوکسال فسفات در روند گلیکوژنولیز نیز دخالت دارد

این کوآنزیم در مکانیسم عمل فسفوریلاز یعنی آنزیمی که باعث تجزیه گلیکوژن می شود نقش مهمی دارد پیریدوکسال در این عمل نیز با گروه ε- آمینی یک ریشه لیزین آنزیم ، باز شیف ابتدایی تشکیل می دهد که البته در تمام روند فسفورولیز پیوندهای گلیکوزیدی ۴ ⟵ ۱ برای تشکیل گلوکز ۱- فسفات دست نخورده باقی می ماند . فسفوریلاز عضله حاوی تا ۸۰-۷۰ درصد کل ویتامین B_6 است .

کمبود ویتامین B_6 ممکن است در دوران شیردهی ، در افراد الکلیک و طی درمان با ایزونیازید ایجاد شود .

کمبود ناشی از فقدان ویتامین B_6 به تنهایی عارضه نادری است و هر نوع کمبود ویتامین معمولاً بخشی از یک کمبود کلی تر ویتامین های کمپلکس B است . جگر ، نوعی ماهی mackerel ، نوعی میوه شبیه انبه (avocados) ، موز ، گوشت ، سبزی ها و تخم مرغ منابع خوبی از این ویتامین هستند . احتمال کمبود این ویتامین در کودکان شیرخواری که مادرانشان به علت مصرف درازمدت قرصهای ضدبارداری خوراکی دچار کمبود این ویتامین هستند ، شناخته شده است .افراد الکلیک نیز ممکن است دچار کمبود این ویتامین شوند. زیرا در اثر متابولیسم اتانول ، استالدئید تولید می شود و این ترکیب باعث هیدرولیز فسفات کوآنزیمی می گردد . ایزونیازید دارویی که به طور گسترده برای درمان سل (توبوکولوز) مورد استفاده قرار می گیرد . از طریق تشکیل ترکیب هیدرازون با پیریدوکسال باعث کمبود ویتامین B_6 می شود .

بیوتین (BIOTIN)

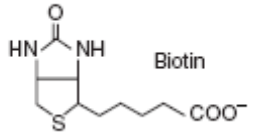
بیوتین یکی از مشتقات ایمیدازول است که به طور گسترده در غذاهای طبیعی انتشار دارد از آنجا که بخش زیادی از نیاز انسان به بیوتین از سنتز این ماده توسط باکتری های روده تأمین می شود ، کمبود بیوتین ناشی از کمبود ساده این ماده در رژیم غذایی نیست بلکه مربوط به اختلال در مصرف آن است .

بیوتین کوآنزیم آنزیم های کربوکسیلاز است

بیوتین به صورت جزئی از آنزیم های خاص دارای چند زیر واحد عمل می کند که این آنزیم واکنش های کربوکسیلاز را کاتالیز می کنند یک یون کربوکسیلات به اتم N^1 بیوتین متصل شده و ترکیب واسطه فعالی موسوم به آنزیم ـ کربوکسی بیوتین (Carboxybiotin – enzyme) تولید می شود این مرحله به HCO_3^- ، ATP ، و Mg^{2+} استیل -CoA (به عنوان یک ماده مؤثر آلوستری) نیاز دارد . سپس گروه کربوکسیل فعال شده به سوبسترای واکنش (به عنوان مثال ، پیرووات) منتقل می شود .

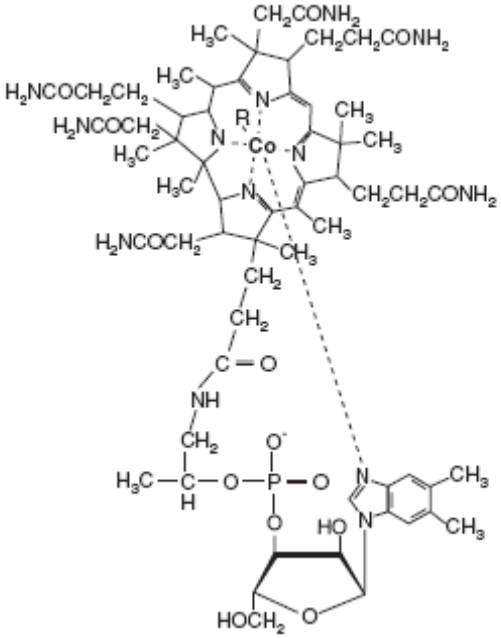
مصرف تخم مرغ خام می تواند باعث کمبود بیوتین شود .

سفیده تخم مرغ دارای پروتئین حساس به حرارتی موسوم به آویدین (avidin) است که اتصال بسیار محکمی با بیوتین برقرار کرده و با جلوگیری از جذب آن باعث کمبود بیوتین می شود . علائم ناشی از کمبود بیوتین عبارتند از افسردگی ، توهم (hallucination) ، درد عضلانی و درماتیت فقدان آنزیم هولوکربوکسیلاز سنتاز (holocarboxylase synthetase) که بیوتین را به ریشه لیزین آپوآنزیم های کربوکسیلاز متعدد (multiple carboxylase deficiency) می شود و همچنین منجر به ایجاد علائم ناشی از کمبود بیوتین از جمله تجمع سوبستراهای مربوط به آنزیم های وابسته به بیوتین (که می توان این مواد را در ادرار مشخص کرد) می گردد . این متابولیت ها عبارتند از : لاکتات ، بتا متیل کرونات ، بتاهیدروکسی ایزووالرات و بتاهیدروکسی پروپیونات کودکان دچار این کمبود گاهی مبتلا به بیماری های نقص ایمنی (immunodeficiency) می شوند همچنین در برخی از اختلالات ارثی تنها کمبود یک آنزیم کربوکسیلاز وجود دارد .



ویتامین B_{12} (VITAMIN B_{12})

ویتامین B_{12} (کوبالامین) ساختمان حلقوی پیچیده ای (حلقه کورین corrin ring) دارد که مشابه حلقه پورفیرین بوده و یک یون کبالت به مرکز آن اضافه شده است . این ویتامین تنها توسط میکروارگانیسم ها سنتز می شود . بنابراین ، این ویتامین در گیاهان وجود ندارد (مگر این که گیاهان آلوده به میکروارگانیسم ها باشند). اما در بدن جانوران در کبد به صورت متیل کوبالامین ، آدنوزیل کوبالامین هیدروکسو کوبالامین یافت می شود بنابراین جگر و همچنین مخمر از منابع مناسب این ویتامین به شمار می روند . محصول تجارتی این ویتامین به صورت سیانوکوبالامین است .



وجود فاکتور داخلی (Intrinsic Factor) برای جذب ویتامین B_{12} ضروری است .

جذب ویتامین B_{12} در روده از طریق جایگاههای گیرنده در ایلئوم انجام می گیرد . روند جذب این ویتامین مستلزم آن است که این ترکیب به یک گلیکوپروتئین کاملاً اختصاصی به نام فاکتور داخلی (intrinsic factor) که توسط سلول های پاریتال مخاط معده ترشح می شود ، متصل شده باشد این ویتامین پس از جذب به یک پروتئین پلاسمایی به نام ترانس کوبالامین II (transcobalamin II) متصل می شود تا به نسوج مختلف انتقال یابد . این ویتامین به صورت متصل به ترانس کوبالامین I در کبد ذخیره می شود (ویتامین B_{12} تنها ویتامین محلول در آبی است که در کبد ذخیره می شود) .

کوآنزیم های فعال ویتامین B_{12} عبارتند از متیل کوبالامین و دزوکسی آدنوزیل کوبالامین

کوبالامین آزاد پس از انتقال در خون به صورت هیدروکسوکوبالامین به داخل سیتوزول سلول ها آزاد می شود . این ترکیب یا در سیتوزول به متیل کوبالامین تبدیل شده یا وارد میتوکندری ها شده و به ۵- دزوکسی آدنوزیل کوبالامین تبدیل می شود .

دزوکسی آدنوزیل کوبالامین کوآنزیم واکنش تبدیل متیل مالونیل –CoA به سوکسینیل CoA است .

این واکنش یکی از واکنش های مهم در مسیر تبدیل پروپیونات به یکی از اجزاء چرخه اسید سیتریک بوده و در نتیجه از اهمیت خاصی در فرآیند گلوکونئوژنز برخوردار است . این واکنش اهمیت ویژه ای در بدن نشخوارکنندگان دارد ، زیرا پروپیونات یکی از محصولات اصلی تخمیر میکروبی مواد غذایی در روده این جانداران است .

متیل کوبالامین کوآنزیم واکنش تبدیل مرکب ۱ـ هموسیستئین به متیونین و ۲ـ متیل تتراهیدروفولات به تتراهیدروفولات است .

در این واکنش ، گروه متیل متصل به کوبالامین به هموسیستئین منتقل شده و ترکیب متیونین به دست می آید و سپس کوبالامین گروه متیل را از N^5– متیل تتراهیدروفولات جدا کرده ، ترکیب تتراهیدروفولات به دست می آید . نتایج متابولیک این واکنش آن است که ذخائر متیونین حفظ شده و تتراهیدروفولات برای مشارکت در سنتز پورین ، پیریمیدین و اسیدهای نوکلئیک در دسترس قرار می گیرد .

کمبود ویتامین B_{12} منجر به کمخونی مگالوبلاستیک می شود

در صورتی که اختلال در جذب ویتامین B_{12} ناشی از فقدان فاکتور داخلی (یا مربوط به خارج کردن معده گاسترکتومی) باشد ، این حالت را کمخونی بدخیم (pernicious anemia) می نامند . گیاهخواران (vegans) در معرض خطر ابتلا به کمبود واقعی این ویتامین در رژیم غذایی خود هستند ، زیرا این ویتامین ها تنها در غذاهای دارای منشاء حیوانی یا در میکروارگانیسم ها یافت می شود و از این نقطه نظر مصرف غذاهای آلوده به میکروارگانیسم ها مفید می باشد . کمبود این ویتامین منجر به اختلال در واکنش متیونین سنتتاز می شود . کمخونی ناشی از اختلال در سنتز DNA و پیشگیری از تقسیم سلولی و تشکیل هسته در گلبول های قرمز جدید است و به دنبال آن سلولهای مگالوبلاست در مغز استخوان تجمع می یابند . اختلال در سنتز پورین ها و پیریمیدین ها ناشی از کمبود تتراهیدروفولات (که « دام فولات ـ folate trap » نامیده می شود) به دام می افتد در این حالت دفع هموسیستین و متیل مالونیک اسید در ادرار (هموسمیستینوری ـ متیل مالونیک اسیدوری) روی می دهد . اختلالات عصبی ناشی از کمبود ویتامین B_{12} می تواند ثانوی به کمبود نسبی متیونین باشد . سبزی های برگ دار منابع اصلی این ویتامین به شمار می روند . اسیدفولیک در گیاهان به صورت یک ترکیب کونژوگه پلی گلوتامات وجود دارد که شامل زنجیره پلی پپتیدی با پیوند گاما شامل ۷ ریشه گلوتامات است . ترکیب اصلی فولات در کبد به صورت کونژوگه پنتاگلوتامیل است .

فولات فعال به صورت تتراهیدروفولات (H_4-folate) است .

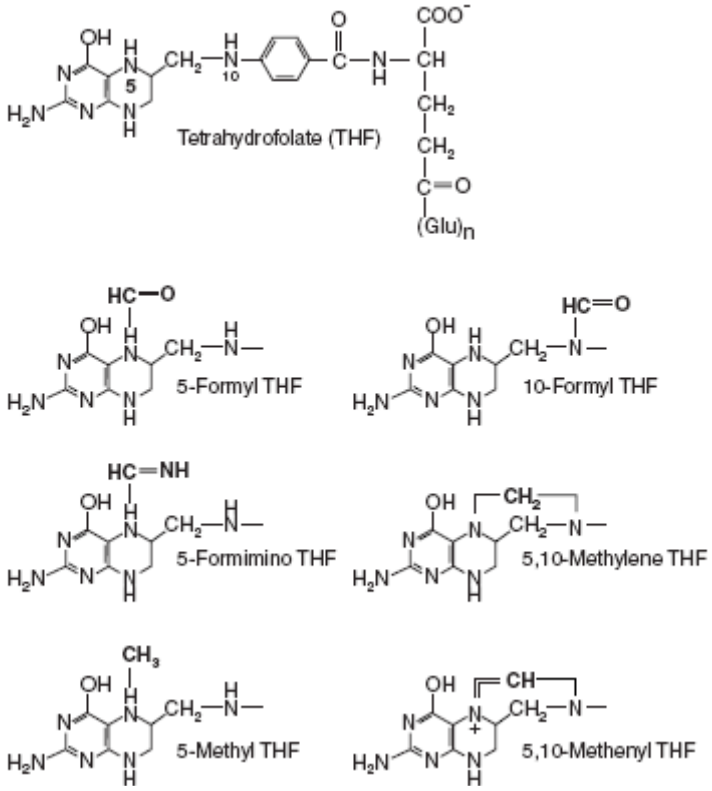
مشتقات فولات در رژیم غذایی توسط آنزیم های اختصاصی روده می شکنند تا ترکیب منوگلوتامیل فولات برای جذب به دست آید . بخش عمده این ترکیب در سلول های روده توسط آنزیم فولات ردوکتاز احیا شده به تتراهیدروفولات تبدیل می شود آنزیم فولات ردوکتاز از NADPH به عنوان دهنده اکی والانهای احیا کننده استفاده می کند احتمالاً کوآنزیم های عملکردی این ویتامین در نسوج مختلف به صورت ترکیبات پلی گلوتامات تتراهیدروفولات هستند .

H_4- فولات حامل واحدهای یک کربنه فعال شده است .

واحدهای یک کربنه که توسط H_4– فولات حمل می شوند در وضعیت های اکسیداسیون مختلفی قرار دارند و عبارتند از متیل (methyl) ، متیلن (methylene) ، متنیل (metheny) فرمیل (formyl) و فرمیمینو (formimino) تمام این ترکیبات از لحاظ متابولیک قابل تبدیل به یکدیگر هستند .

سرین منبع اصلی یک واحد یک کربنه به شکل گروه متیلن است و این گروه را به طور قابل برگشت به H_4– فولات منتقل می کند تا گلیسین و ترکیب N^5 و N^{10} متیلن ـ H_4 فولات به دست آید . این ترکیب نقش مهمی در متابولیسم واحدهای یک کربنه ایفا می کند این ترکیب می تواند احیا شده به N^5– متیل -H4 فولات تبدیل شود که نقش مهمی در متیله شدن هموسیستئین و تبدیل آن به متیونین با دخالت کوفاکتورمتیل کوبالامین دارد . از سوی دیگر ترکیب فوق می تواند اکسیده شده به $N^{5,10}$– متنیل ـH_4 فولات تبدیل شود که این ترکیب خود هیدراته شده به N^{10}– فرمیل – N_4ـ فولات یا به N^5– فرمیل ـH_4 فولات تبدیل می شود . ترکیب اخیر را اسید فولینیک (folinic acid) نیز می نامند و شکل پایداری است که می توان آن را برای تجویز فولات احیا شده مورد استفاده قرار داد .

فرمیمینوگلوتامات (Figlu) ، یک کاتابولیت هیستیدین بوده و گروه فرمیمینو خود را به H_4ـ فولات منتقل کرده و ترکیب N^5– فرمیمینو ـH_4 - فولات به دست می آید در کمبود فولات ، به دنبال تست چالش خوراکی هیستیدین (oral challenge with histidine) ترکیب Figlu تجمع می یابد .



کمبود فولات منجر به کمخونی مگالوبلاستیک می شود

توضیح علت این امر مشابه توضیحی است که در مورد اثرات کمبود ویتامین B_{12} داده شد . N^5– و N^{10}– متیلن H_4-فولات گروه متیل را برای تیمیدیلات فراهم می آورد .تیمیدیلات یکی از ترکیبات پیش ساز ضروری برای سنتز DNA و تشکیل گلبول های قرمز است . همزمان با احیاء گروه متیلن و تبدیل آن به گروه متیل ، H_4-فولات اکسیده شده به دی هیدروفولات تبدیل می شود و این ترکیب بایستی برای استفاده مجدد به H_4- فولات تبدیل می شود بنابراین ، سلول هایی که تیمیدیلات (برای ساختن DNA) سنتز می کنند ، حساسیت شدیدی نسبت به ترکیبات مهار کننده فولات ردوکتاز از قبیل متوترکسات دارند .

پیچیدگی تداخل عمل ویتامین B_{12} و فولات ناشی از نقش مشترک آنها در واکنش متیونین سنتتاز است به این ترتیب ، کمخونی مگالوبلاستیک ناشی از کمبود ویتامین B_{12} ممکن است با تجویز فولات اضافی در رژیم غذایی برطرف شود ، اما این کار نمی تواند باعث برطرف شدن همسیستینوری ـ متیل مالونیک اسیدوری با اختلالات عصبی مربوط به کمبود ویتامین B_{12} شود .

اسید آسکوربیک ـ ویتامین c (VITAMIN C) ASCORBIC ACID

ساختمان اسید آسکوربیک مشابه گلوکز بوده و در بدن اکثر پستانداران از این ترکیب ساخته می شود. با این حال در بدن پریماتها از جمله انسان و تعداد دیگری از جانداران از قبیل خوکچه هندی ، برخی از خفاش ها ، پرندگان ، ماهی ها و بی مهرگان ، فقدان آنزیم L– گولونولاکتون اکسید از مانع سنتز این ویتامین می شود .

شکل فعال ویتامین C ، خود اسید آسکوربیک است و به صورت یک دهنده اکی والانهای احیاء کننده عمل می کند .

هنگامی که اسید آسکوربیک به صورت یک دهنده اکی والانهای احیا کننده عمل می کند ، اکسیده شده به دهیدروآسکوربیک اسید تبدیل می شود و این ترکیب خود می تواند به صورت یک منبع ویتامین عمل کند . اسید آسکوربیک یک عامل احیا کننده با پتانسیل هیدروژنی برابر ۰/۰۸+ ولت می باشد و می تواند ترکیباتی از قبیل اکسیژن مولکولی ، نیترات و سیتوکرومهای a و c را احیا کند مکانیسم اثر اسید آسکوربیک در بسیاری از اعمال آن هنوز مشخص نشده ، اما موارد زیر برخی از فرآیندهای محتاج اسید آسکوربیک هستند که بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته اند . در بسیاری از این فرآیندها ، اسید آسکوربیک به طور مستقیم شرکت نمی کند بلکه برای حفظ یک کوفاکتور فلزی در وضعیت احیاء مورد نیاز است از جمله این موارد می توان به CU+2 در آنزیم های منواکسیژناز و Fe2+ در آنزیم های دی اکسیژناز اشاره کرد .

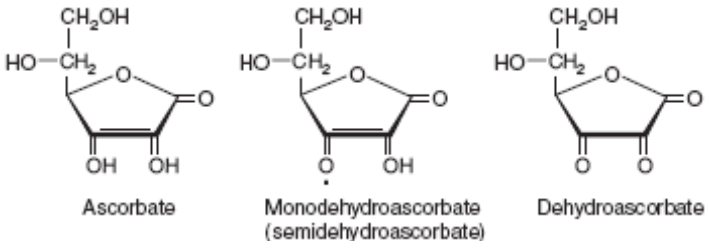
۱. این ویتامین در سنتزکلاژن برای هیدروکسیلاسیون پرولین مورد نیاز است .
۲. در روند تجزیه تیروزین ، مرحله اکسیداسیون P– هیدروکسی فنیل پیرووات و تبدیل آن به هموژنتیزات به ویتامین C نیاز دارد . این ویتامین فلز مس را در وضعیت احیاء نگه می دارد و این حالت برای حداکثر فعالیت

آنزیم ضروری است . مرحله بعدی توسط آنزیم هموژنتیزات دی اکسیژناز کاتالیز می شود . این آنزیم حاوی آهن فرو بوده و به اسید آسکوربیک نیز نیاز دارد .

۳. در سنتز اپی نفرین از تیروزین ، این ویتامین در مرحله دوپامین بتا ـ هیدروکسیلاز مورد نیاز است .
۴. این ویتامین در تشکیل اسیدهای صفراوی ، در مرحله ۷α- هیدروکسیلاز ابتدایی مورد نیاز است .
۵. قشر غده فوق کلیوی ، حاوی مقادیر زیادی از ویتامین C است و هنگامی که این غده توسط هورمون آدرنوکوروتیکوتروپیک تحریک می شود ، مقدار ویتامین C به سرعت کاهش می یابد . علت وجود مقادیر زیاد ویتامین C در قشر غده فوق کلیوی مشخص نشده ، اما روند تولید هورمون های استروئیدی شامل مراحل سنتز احیایی متعددی است .
۶. جذب آهن به طور قابل توجهی در حضور ویتامین C افزایش می یابد .
۷. اسید آسکوربیک به صورت یک ماده کلی ضداکسیدان محلول در آب عمل می کند و می تواند تشکیل ترکیبات نیتروزامین را طی روند هضم مهار کند .

کمبود اسید آسکوربیک منجر به بیماری اسکوروی می شود .

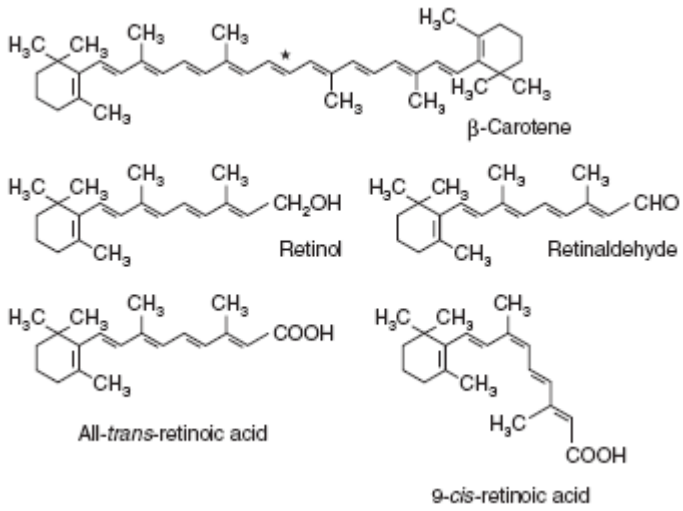
اسکوروی (scurvy) سندرم کلاسیک مربوط به کمبود ویتامین C است . این سندرم با نقص سنتز کلاژن ارتباط داشته و با خونریزیهای زیر جلدی و سایر مناطق بدن ،ضعف عضلانی ، تورم و نرمی لثه ها و لق بودن دندان ها مشخص می شود . این عارضه با مصرف میوه ها و سبزی های تازه بهبود می یابد . ذخایر طبیعی ویتامین C برای مدت ۳ تا ۴ ماه قبل از پیدایش نشانه های اسکوروی کفایت می کنند .



ساختمان و عمل ویتامین های محلول در چربی

ویتامین A (VITAMIN A)

ویتامین A یا رتینول یک ترکیب پلی ایزوپرنوئید حاوی یک حلقه سیکلوهگزنیل است . ویتامین A نام ژنریک و کلی مربوط به تمام ترکیباتی از منبع حیوانی است که دارای فعالیت بیولوژیک ویتامین A هستند . این ترکیب عمدتاً به شکل استرهای رتینول در کبد ذخیره می شود در بدن اعمال اصلی ویتامین A توسط رتینول و دو ترکیب مشتق آن یعنی رتینال و اسید رتینوئیک انجام می شود . از واژه رتینوئیدها برای توصیف اشکال طبیعی و آنالوگ های مصنوعی رتینول استفاده می شود .



ویتامین A در سبزی ها به صورت پرووویتامینی به شکل رنگدانه زرد بتا ـ کاروتن است که شامل دو مولکول رتینال می باشد که در انتهای آلدئیدی زنجیره کربن به یکدیگر متصل شده اند . با این حال ، چون بتاکاروتن به طور مؤثر به صورت ویتامین A متابولیزه نمی شود ، بتا ـ کاروتن از لحاظ درصد وزنی تنها ۱/۶ کارایی رتینول را به عنوان منبع ویتامین A دارد . ترکیبات مشابه بتا ـ کاروتن را کاروتنوئیدها (Carotenoids) می نامند .

هضم ویتامین A همانند لیپیدها بوده و به دنبال آن تغییراتی در ساختمان این ترکیب در مخاط روده ایجاد می شود .

استرهای رتینول که در چربی رژیم غذایی حل شده اند ، در قطرات صفرا پخش شده و در مجرای روده هیدرولیز می شوند و سپس به طور مستقیم توسط اپیتلیوم روده جذب می شوند ترکیبات بتا ـ کاروتن مصرف شده توسط آنزیم بتا ـ کاروتن دی اکسیژناز به صورت اکسیداتیو تجزیه می شوند در این واکنش اکسیژن مولکولی مورد مصرف قرار گرفته ، و این واکنش در حضور املاح صفراوی می یابد و در نتیجه آن دو مولکول رتینالدئید یا رتینال تولید می شود این واکنش در بدن گربه قابل انجام نیست و بایستی ویتامین A از قبل تشکیل شده ، در رژیم غذایی این جاندار وجود

داشته باشد . همچنین در مخاط روده ، رتینال توسط یک آنزیم اختصاصی رتینالدئید ردوکتاز با استفاده از NADPH احیا شده به رتینول تبدیل می شود . مقدار کمی از رتینال اکسیده شده به اسیرتینئیک تبدیل می شود . بخش عمده رتینول با اسیدهای چرب استریفیه شده و به شیلومیکرونهای لنف وارد می شود و از آنجا وارد جریان خون می گردد . این ترکیبات به بقایای شیلو میکرون تبدیل شده و ترکیبات حاصل همراه با محتوای رتینول موجود در آنها توسط کبد برداشت می شود . کاروتنوئیدها برخی از این فرآیندها را طی نمی کنند و مستقیماً وارد شیلومیکرونه می شوند .

ویتامین A در کبد ذخیره شده و به شکل متصل به پروتئین به داخل خون آزاد می شود .

ویتامین A در کبد به صورت استری در لیپوسیت ها (سلول های ستاره ای شکل اطراف سینوزوئیدها) و احتمالاً به شکل کمپلکس لیپو ـ گلیکوپروتئین ذخیره می شود . این ترکیب برای انتقال به نسوج هیدرولیز شده و رتینول به آپوپروتئین متصل شونده به رتینول (RBP) متصل می شود .

Holo –RBP حاصله در دستگاه گلژی پردازش شده و به داخل پلاسما ترشح می شود . این ترکیب از طریق گیرنده های سطح سلول وارد نسوج می شود . اسید رتینوئیک در پلاسما به شکل متصل به آلبومین منتقل می گردد . رتینول در داخل سلول های خارج کبدی به پروتئین سلولی متصل شونده به رتینول (CRBP) متصل می شود .

مسمومیت با ویتامین A (هیپر ویتامینوز A) هنگامی ایجاد می شود که ظرفیت RBP تکمیل شده و سلول ها در معرض رتینول غیرمتصل (unbound retinol) قرار می گیرند . این حالت ناشی از مصرف بیش از حد ترکیبات حاوی ویتامین A بوده و در کاشفین قطب شمال (Arctic explorers) که جگر خرس قطبی را مصرف می کنند مشاهده شده است . خرس قطبی در انتهای زنجیره غذایی ویتامین A قرار دارد .

رتینول ، رتینال و اسیدرتینوئیک همگی اعمال منحصر به فرد دارند .

رتینول و رتینال در حضور آنزیم های دهیدروژناز یا ردوکتاز نیازمند NAD یا NADP که در بسیاری از نسوج وجود دارند ، به یکدیگر تبدیل می شوند با این حال ، هنگامی که اسیدرتینوئیک از رتینال تشکیل می شود نمی تواند مجدداً به رتینال یا به رتینول تبدیل شود . به این ترتیب ، اسید رتینوئیک می تواند به روند رشد و تمایز کمک کند . اما نمی تواند جایگزین رتینال در نقش آن در روند بینایی یا جایگزین رتینول در تأثیر آن بر سیستم تولید مثل شود .

رتینول به صورت یک هورمون استروئیدی عمل می کند .

هنگامی که رتینول توسط CRBP برداشت می شود . در داخل سلول منتقل شده و به پروتئین های هسته ای متصل می شود و احتمالاً در این محل در کنترل بیان ژن های خاص دخالت دارد . بنابراین ویتامین A از این لحاظ مشابه هورمون های استروئیدی عمل می کند . نیاز به ویتامین A برای تولید مثل طبیعی مربوط به این عملکرد است .

رتینال جزئی از رنگدانه بینایی یعنی ردوپسین است .

ردوپسین (rhodopsin) در سلول های استوانه ای شبکیه جای داشته و مسئول دید در نور ضعیف است ۱۱- سیس – رتینال ایزومری از رتینال تمام ترانس به طور اختصاصی به پروتئین بینایی موسوم به اپسین (opsin) متصل می شود تا ردوپسین تشکیل شود . هنگامی که ردوپسین در معرض نور قرار می گیرد همزمان با سفیدشدن خود تجزیه شده و رتینال تمام ترانس با اپسین تشکیل می شود این واکنش با یک تغییر شکل فضایی همراه است که باعث القا یک کانال

یون کلسیم در غشاء سلول استوانه ای می شود . ورود سریع یون های کلسیم محرک ایجاد یک ایمپالس عصبی بوده و امکان درک نور توسط مغز را فراهم می آورد .

اسیدرتینوئیک در سنتز گلیکوپروتئین ها شرکت دارد

این عمل تا حدی اثر اسیرتینوئیک در تحریک رشد و تمایز نسوج را توجیه می کند پیشنهاد شده که ترکیب رتینوئیل فسفات به صورت حامل الیگوساکاریدها در دو سوی ساختمان دولایه ای لیپیدی سلول و از طریق یک مکانیسم آنزیمی ایزومریزه شدن ترانس ـ سیس (مشابه آنچه در مورد ایزومره شدن ترانس ـ سیس مربوط به ردوپسین شرح داده شد) عمل می کند . شواهد زیادی در مورد دخالت اسیدرتینوئیک در سنتز گلیکوپروتئین ها به دست آمده است ، زیرا کمبود ویتامین A منجر به تجمع ترکیبات واسطه ای الیگوساکاریدی ـ لیپیدی غیرطبیعی با وزن مولکولی کم در مسیر سنتز گلیکوپروتئین ها می شود .

فقدان ویتامین A علائم کمبود مشخصی ایجاد می کند .

این علائم ناشی از اختلال عملکرد مکانیسم های سلولی مختلفی می باشد که رتینوئیدها در آنها شرکت دارند . یکی از نخستین نشانه های کمبود ویتامین A اختلال بینایی در هنگام شب است ، که هنگامی ایجاد می شود که دخائر کبدی رو به اتمام است . کاهش بیشتر ویتامین A منجر به کراتینیزه شدن نسوج اپیتلیال چشم ، ریه و مجاری گوارشی و تناسلی ـ ادراری همراه با کاهش تولید موکوس می شود . ضایعات بافت های چشم به صورت خشکی چشم منجر به کوری می شود . کمبود ویتامین A عمدتاً در رژیم های غذایی ساده و نامناسب همراه با فقدان سبزی ها که پرووویتامین بتا ـ کاروتن را تأمین می کنند ، ایجاد می شود . افراد الکلیک استعداد خاصی نسبت به کمبود ویتامین A دارند ، اما با تجویز این ویتامین نیز احتمال بروز هیپرویتامینوز در آنان بیشتر است .

ترکیبات رتینوئید و کاروتنوئید هر دو فعالیت ضدسرطانی دارند

بسیاری از انواع سرطان های انسان در بافت های اپیتلیالی ایجاد می شود که برای تمایز طبیعی سلولی به ترکیبات رتینوئید وابسته اند . در برخی از مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده شده که بین مقدار ویتامین A رژیم غذایی و خطر بروز سرطان ارتباط معکوسی وجود دارد ، و تجربیات نشانگر آن است که تجویز ترکیبات رتینوئید اثر برخی از مواد سرطان زا (کارسینوژن) را کاهش می دهد .

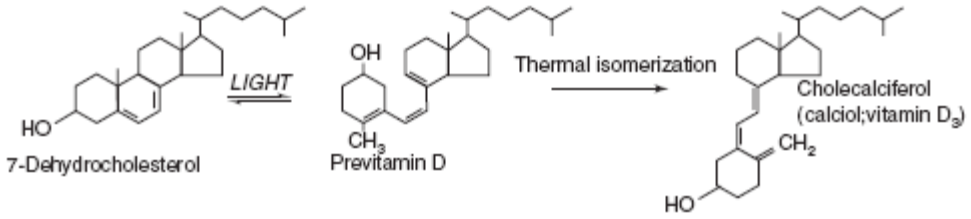
بتا ـ کاروتن یک ماده ضد اکسیدان بوده و ممکن است نقشی در به دام انداختن رادیکال های آزاد پروکسی در نسوج در فشار نسبی پائین اکسیژن به عهده داشته باشد توانایی بتا ـ کاروتن در عمل به صورت یک ماده ضد اکسیدان مربوط به پایدار کردن رادیکال های ازاد آلی پراکسید در ساختمان آلکیل کونژوگه آن است . از آنجا که بتا کاروتن در غلظت پائین اکسیژن به طور مؤثر عمل می کند ، این ترکیب مکمل خواص ضد اکسیدان ویتامین E (که در غلظت بالاتر اکسیژن مؤثر است) می باشد . خواص ضد اکسیدان این دو ویتامین محلول در چربی فعالیت ضد سرطانی احتمالی آنها را به خوبی توجیه می کند .

ویتامین D (VITANIN D)

ویتامین D یک پروهورمون استروئیدی است . این ترکیب همراه با سایر استروئیدهایی که در جانوران ، گیاهان و مخمرها وجود دارند ، یافت می شود . این ترکیبات طی تغییرات متابولیک مختلفی در بدن به هورمونی مسوم به لسیتریول (Calcitriol) تبدیل می شوند که نقش مهمی در متابولیسم کلسیم و فسفات به عهده دارند .

ویتامین های D در اثر عمل نور آفتاب از پرو ویتامین های ارگوسترول و ۷- دهیدروکلسترول ساخته می شوند .

ارگوسترول در گیاهان و ۷- دهیدروکلسترول در حیوانات وجود دارد . تنها تفاوت ارگوسترول با ۷- دهیدروکلسترول در زنجیره جانبی آن است که غیراشباع بوده و حاوی یک گروه متیل اضافه است . اشعه ماوراء بنفش از نور خورشید حلقه B هر دو ترکیب فوق را می شکند . در گیاهان ترکیب ارگوکلسیفرول (ویتامین D_2) در پوست در معرض آفتاب ساخته می شود . هر دو این ویتامین ها قدرت مشابهی داشته و به ترتیب به D_2– کلسیتریول و D_3– کلسیتریول تبدیل می شوند . در اینجا تنها مسیر دوم شرح داده می شود .

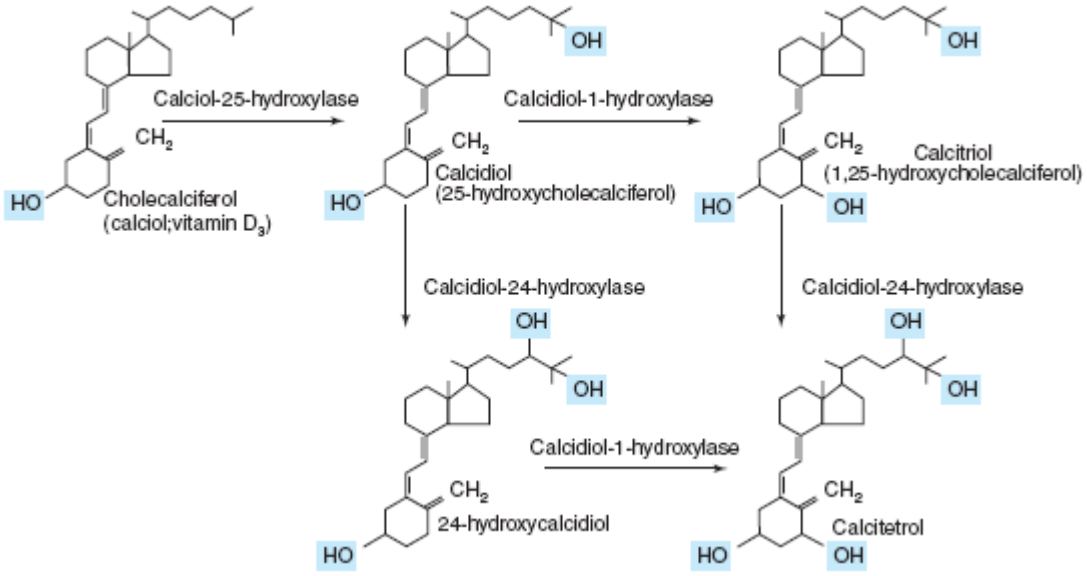


کبد و کلیه در سنتز کلسیتریول دخالت دارند

ویتامین D_3 تحت تأثیر نور خورشید از ۷- دهیدروکلسترول ساخته شده و ویتامین D_3 یا (D_2) موجود در رژیم غذایی پس از جذب از میسل های موجود در روده ، در خون به صورت متصل به یک گلبولین اختصاصی حرکت می کند ویتامینD_3 توسط کبد برداشت شده و توسط آنزیم ویتامین D_3 -۲۵- هیدروکسیلاز در موقعیت ۲۵ هیدروکسیله می شود . این آنزیم متعلق به شبکه اندوپلاسمیک بوده و به نظر می رسد که آنزیم محدود کننده سرعت است ۲۵- هیدروکسی D_3 شکل اصلی ویتامین D موجود در گردش خن و شکل ذخیره اصلی این ویتامین در کبد است بخش قابل توجهی از ۲۵- هیدروکسی D_3 وارد گردش کبدی روده ای (Enterohepatic circulation) می شود و اختلال این فرآیند می تواند منجر به کمبود ویتامین D شود .

در توبول های کلیه ، استخوان و جفت ، ۲۵- هیدروکسی D_3 توسط آنزیم ۲۵- هیدروکسی D_3 ، ۱- هیدروکسیلاز (که جزء آنزیم های میتوکندری است) در موقعیت یک مجدداً هیدروکسیله می شود . محصول به دست آمده ۱- آلفا و ۲۵- دی هیدروکسیD_3 (کلسیتریول) است که قویترین متابولیت ویتامین D می باشد . تولید این ترکیب توسط غلظت خود آن ، هورمون پارائیروئید و فسفات سرم تنظیم می شود .

همچنین ممکن است ۲۵- هیدروکسی D_3 در موقعیت ۲۴ توسط یک آنزیم مربوط به میتوکندری که در توبول های کلیه ، غضروف ، روده و جفت وجود دارد ، هیدروکسیله شود مقدار محصول به دست آمده یعنی ۲۵ و ۲۴- دی هیدروکسی D_3 با مقدار ۲۵ و ۱- دی هیدروکسی D_3 موجود در سرم ارتباط متقابل دارد .



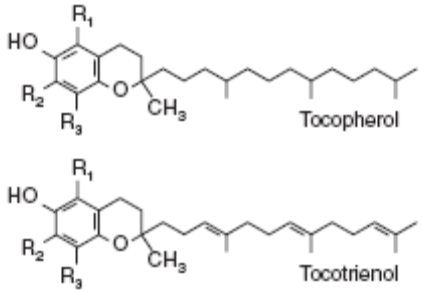
کمبود ویتامین D منجر به راشیتیسم و نرمی استخوان می شود

راشیتیسم در کودکان کم سن و نرمی استخوان در بزرگسالانی ایجاد می شود که در معرض نور آفتاب قرار نمی گیرد یا در رژیم غذایی آنان مقادیر کافی ویتامین D وجود ندارد . این عارضه مربوط به نرم شدن استخوان ها در اثر فقدان کلسیم و فسفات موجود در آنها است . روغن ماهی ، زرده تخم مرغ و جگر از منابع مهم این ویتامین به شمار می روند . میزان برخورد فرد با نور آفتاب که به عرض جغرافیایی ، فصل سال و سایر عوامل بستگی دارد ، در وابستگی نسبی به منابع غذایی برای تأمین نیازهای ویتامین D تأثیر می گذارد .

ویتامین E ـ توکوفرول (- TOCOPHEROL VITAMIN E)

ترکیبات توکوفرول طبیعی متعددی وجود دارند . این ترکیبات همگی ۶- هیدروکسی کرومان های استخلاف شده توسط ایزوپرنوئید یا ترکیبات توکول هستند .

ترکیب D- α- توکوفرول بیشترین انتشار را در طبیعت داشته و بیشترین میزان فعالیت بیولوژیک را دارد . سایر ترکیبات توکوفرول که از لحاظ غذایی حائز اهمیت هستند .



جذب فعال چربی ها منجر به جذب ویتامین E می شود

اختلال جذب چوبی ها منجر به کمبود ویتامین E می شود . زیرا توکوفرول به صورت محلول در چربی رژیم غذایی بوده و طی هضم مواد چرب ، آزاد و جذب می شود . علاوه بر این ، این ترکیب توسط لیپوپروتئین ها در خون انتقال می یابد ابتدا این ویتامین وارد شیلومیکرونها شده و به نسوجی که دارای آنزیم لیپوپروتئین لیپاز هستند می رسد و سپس ب صورت بقایای شیلومیکرون در دسترس کبد قرار می گیرد و در مرحله دوم به شکل لیپوپروتئین با دانسیته بسیار کم از کبد خارج می شود . این ویتامین در بافت چربی ذخیره می شود به این ترتیب ، کمبود ویتامین E ممکن است در حالات مربوط به اختلال عملکرد هر یک از فرآیندهای فوق وجود داشته باشد . به عنوان مثال می توان به استئاتوره مزمن ، آبتالیپوپروتئینمی ، بیماری کلستاتیک کبدی ، فیبروز کیستیک و به بیمارانی که عمل جراحی قطع روده (Intestinal resection) در مورد آن انجام شده ، اشاره کرد .

ویتامین E یکی از مهمترین مواد ضد اکسیدان موجود در طبیعت است .

به نظر می رسد که ویتامین E نخستین رده دفاعی در مقابل پراکسیداسیون اسیدهای چرب و غیراشباع چندگانه موجود در فسفولیپیدهای غشاء سلولی و اجزاء تحت سلولی می باشد . فسفولیپیدهای میتوکندری ها ، شبکه اندوپلاسمیک و غشاهای پلاسمایی دارای میل ترکیبی نسبت به آلفا توکوفرول بوده و به نظر می رسد که این ویتامین در این جایگاهها تمرکز می یابد . ترکیبات توکوفرول به صورت مواد ضد اکسیدان عمل کرده و در اثر انتقال یک هیدروژن فنلی به رادیکال آزاد پروکسیل از یک اسیدچرب غیر اشباع چندگانه پراکسید شده ، باعث شکسته شدن واکنش های زنجیره ای رادیکال های آزاد می شوند رادیکال آزاد فنوکسی تشکیل شده می تواند با ویتامین C واکنش انجام داده و توکوفرول مجدداً تشکیل شود . یا ممکن است این ترکیب با رادیکال آزاد پروکسیل دیگری واکنش انجام دهد و در نتیجه حلقه کرومان و زنجیره جانبی اکسید شده به محصول غیررادیکال آزادی تبدیل می شوند . این محصول واکنش اکسیداسیون با اسیدگلوکورونیک از طریق گروه ۲- هیدروکسیل کونژوگه شده و در صفرا دفع می شود . در صورتی که مسیر دوم انجام گیرد ، توکوفرول پس از انجام عمل خود مجدداً وارد چرخه واکنش نمی شود ، اما بایستی برای تداوم نقش بیولوژیک آن در سلول ، این ترکیب به طور کامل جایگزین شود . عمل ضد اکسیدان توکوفرول در غلظت بالای اکسیژن به طور مؤثر انجام می گیرد و بنابراین جای تعجبی نیست که این ویتامین در ساختمان های لیپیدی تجمع یافته که در معرض بالاترین فشار نسبی O_2 هستند (مانند غشاء گلبول های قرمز و غشاهای مجاری تنفسی).

ویتامین E و سلنیوم به صورت سینرژیست عمل می کنند

گلوتاتیون پراکسیداز که سلنیوم یکی از اجزای اصلی آن است رده دفاعی دوم در مقابل هیدروپراکسیدها قبل از آسیب رساندن این ترکیبات به غشاها و سایر اجزای سلولی می باشند به این ترتیب توکوفرول و سلنیوم اعمال یکدیگر را در مقابل پراکسیدهای لیپیدی تقویت می کنند . علاوه بر این ، سلنیوم برای عملکرد طبیعی پانکراس که برای هضم و جذب لیپیدها از جمله ویتامین E ضروری است ، مورد نیاز می باشد . از سوی دیگر ، ویتامینE از طریق جلوگیری از دفع سلنیوم از بدن یا حفظ آن به شکل فعال ، نیاز به سلنیوم را کاهش می دهد .

کمبود ویتامین E ممکن است منجر به کمخونی در نوزاد شود

احتمالاً بایستی به رژیم غذایی زنان حامله و شیرده و نوزادانی که احتمال ایجاد کمخونی در اثر کمبود ویتامین E در آنان وجود دارد ، ترکیبات توکوفرول را اضافه کرد . کمخونی در این افراد ممکن است ناشی از کاهش تولید هموگلوبین و کم شدن طول عمر گلبول های قرمز باشد .

نیاز به ویتامین E با مصارف مقادیر بیشتر چربی های غیراشباع چندگانه (دارای چند پیوند دوگانه) افزایش می یابد . مصرف روغن های معدنی ، مواجه شدن با اکسیژن (مانند چادر اکسیژن) یا بیماری هایی که منجر به جذب غیر مؤثر لیپیدها می شوند می تواند باعث کمبود این ویتامین و ایجاد اختلالات عصبی شوند .

ویتامین E در روش های معمولی تهیه و نگهداری غذا (از جمله سرما و انجماد شدید) از بین رفته و تخریب می شود . زنگ گندم ، روغن دانه آفتابگردان و کافشه (Safflower) و روغن ذرت و سویا همگی از منابع مناسب این ویتامین به شمار می روند هر چند روغن ماهی منبع سرشاری از لحاظ ویتامین های A و D به شمار می رود ، مقدار ویتامین E موجود در آن در حد قابل توجهی نیست .

انواع ترکیبات واکنشی و فعال اکسیژن می توانند منجر به ایجاد بیماری شوند.

یک رادیکال آزاد اتم یا مولکولی است که یک یا چند الکترون جفت نشده دارد چون این ترکیب تمایل به گرفتن الکترون از مواد دیگر دارد ، بسیار فعال بوده و با سایر مواد واکنش انجام می دهد . البته ، تمام انواع ترکیبات اکسیژن واکنشی (reactive oxygen) رادیکال آزاد به شمار نمی روند (مانند اکسیژن منفرد و H2O2) هنگامی که اکسیژن توسط سیتوکروم اکسیداز احیا شده به آب تبدیل می شود ، ۴ الکترون بدست آورد با این حال ممکن است در واکنش احیاء یک ظرفیتی هر بار یک الکترون به اتم اکسیژن اضافه شود و یک تا پنج درصد کل مصرف اکسیژن از این مسیر انجام می گیرد . هر یک از مولکول های مسیر احیاء یک ظرفیتی بسیار فعال بوده و می توانند به نسوج آسیب برسانند. این ترکیبات شامل رادیکال های آزاد سوپراکسید ، پراکسیدهیدروژن و رادیکال آزاد هیدروکسیل می باشند . ترکیب آخر بسیار سمی بوده اما عمر کوتاهی دارد . سایر منابع ترکیبات واکنشی اکسیژن عبارتند از گزانتین اکسیداز که ترکیب سوپراکسید را تولید می کند (به عنوان مثال طی ایجاد ضایعه ناشی از خون رسانی مجدد به اعضاء دچار ایسکمی) آنزیمهای سیکلوکسیژناز و لیپوکسیژناز که رادیکالهای هیدروکسیل و پروکسیل را تولید می کنند . نوتروفیل های تحریک شده ترکیب سوپراکسید را تولید می کنند که یکی از مکانیسم های تخرین باکتری ها است . همچنین ممکن است در روند متابولیسم گزنوبیوتیک ها توسط سیتوکروم P-450 سوپراکسید تشکیل شود . چون این مولکول ها به شدت واکنش انجام می دهند ، عمل خود را به طور موضعی و در مجاورت نزدیک محلی که تولید شده اند ، انجام می دهند . به این ترتیب اکثر ساختارهای سلولی از جمله غشاها ، پروتئین های ساختمانی آنزیم ها و اسیدهای نوکلئیک در معرض آسیب توسط این ترکیبات بوده و این آسیب می تواند منجر به بروز موتاسیون و مرگ سلولی شود .

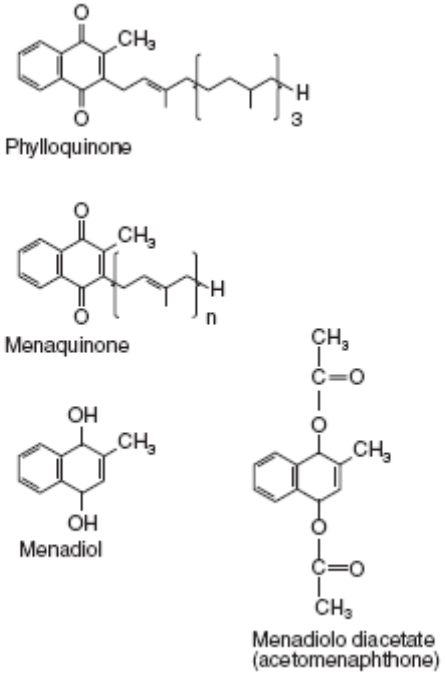
مواد غذایی ضد اکسیدان می توانند جلوی بیماری ها را بگیرند

شواهد روزافزونی در مورد دخالت رادیکال های آزاد و سایر مولکول های واکنشی در فرآیندهای بیماری به دست آمده است . شواهد اصلی مربوط به مطالعات اپیدمیولوژیک است که بیانگر ارتباط آماری بین میزان بروز بیماری ها و مقدار پائین مواد غذایی ضد اکسیدان در خون یا رژیم غذایی است . این حالت در مورد ارتباط سرطان با سلنیوم ،

ویتامین A ، بتا ـ کاروتن ، ویتامین C و ویتامین E صدق می کند . همچنین ارتباط معکوسی بین میزان بروز بیماری های قلب و عروق و وضعیت ویتامین E و C بدون وجود دارد . این یافته مطابق با سایر مطالعاتی است که نشان دهنده آن است که LDL اکسید شده راحت تر از LDL طبیعی توسط ماکروفاژها و سلول های کف آلود (foam cells) برداشته می شود و داروی ضداکسیدان پروبوکول (probucol) تأثیر مفیدی در این فرآیندها به جای می گذارد .

ویتامین K (VITAMIN K)

ویتامین های متعلق به گروه K ترکیبات نفتوکینون استخلاف شده توسط ایزوپرنوئید هستند منادیون (menadione – k_3) تبدیل می شود فیلوکینون شکل اصلی ویتامین K در گیاهان است . مناکینون -۷ یکی از اشکال غیراشباع پلی پرنوئید ویتامین K است که در نسوج حیوانی یافت شده و توسط باکتری های روده سنتز می شود .



جذب ویتامین K مستلزم جذب طبیعی چربی ها است

سوء جذب مواد چربی شایع ترین علت کمبود ویتامین k به شمار می رود مشتقات ویتامین k موجود در طبیعت ، همانند سایر مواد لیپیدی تنها در حضور املاح صفراوی جذب شده و از طریق عروق لنفاتیک و به شکل شیلومیکرون وارد جریان خون می شوند . منادیون که محلول در آب است حتی بدون حضور املاح صفراوی جذب شده و مستقیماً وارد وریدیاب کبدی می شود . هر چند ویتامین k ابتدا در کبد تجمع می یابد ، غلظت کبدی آن به سرعت کاهش یافته و ذخیره سازی آن محدود است .

ویتامین k برای بیوسنتز فاکتورهای انعقاد خون مورد نیاز است

نشان داده شده که ویتامین k در حفظ مقدار طبیعی فاکتورهای انعقاد خون شماره X-IX-VII,II دخالت دارد . همه این فاکتورها ابتدا در کبد به صورت پروتئین های پیش ساز غیرفعال ساخته می شوند .

ویتامین K به صورت کوفاکتور آنزیم کربوکسیلازی عمل می کند که گروه γ- کربوکسی گلوتامات را در پروتئین های پیش ساز تشکیل می دهد

تولید فاکتورهای انعقادی فعال از لحاظ بیولوژیک مستلزم تغییرات پس از مرحله ترجمه ریشه های گلوتامات (Glu) در پروتئین پیش ساز و تبدیل آنها به ریشه های گاما ـ کربوکسی گلوتامات (Gla) توسط یک آنزیم کربوکسیلاز اختصاصی وابسته به ویتامین k می باشد پروترومبین (فاکتور II) حاوی ۱۰ ریشه از این نوع بوده و این ریشه ها در یک تداخل عمل اختصاصی بین پروتئین ـ کلسیم ـ فسفولیپید که برای اعمال نقش بیولوژیک آنها ضروری است ، می توانند کلسیم را نگه دارند . هم اکنون در بافت های مختلف ، سایر پروتئین هایی که دارای ریشه های Gla وابسته به ویتامین K هستند شناسایی شده اند .

در چرخه ویتامین K ، ترکیب احیا شده ویتامین K مجدداً تولید می شود .

واکنش کربوکسیلاز وابسته به ویتامین K در شبکه اندوپلاسمیک نسوج متعددی انجام می گیرد و به اکسیژن مولکولی ، دی اکسیدکربن (نه HCO_3^-) و هیدروکینون (شکل احیا شده ویتامین k) نیاز دارد . در شبکه اندوپلاسمیک کبد یک چرخه ویتامین K وجود دارد که در آن محصول ۲ و ۳- اپوکسید واکنش کربوکسیلاسیون توسط آنزیم ۲ و ۳- اپوکسید ردوکتاز و با استفاده از یک عامل احیا کننده دی تیول ناشناخته به شکل کینون ویتامین K تبدیل می شود . این واکنش به اثر مهاری داروهای ضد انعقادی از نوع ۴- هیدروکسی دی کومارین از قبیل وارفارین حساس است سپس با احیاء شکل کینون به شکل هیدروکینون توسط NADH ، چرخه ویتامین K کامل شده و شکل فعال این ویتامین مجدداً تولید می شود .

یکی از مصارف درمانی مهم ویتامین K به عنوان ضد سم (antidote) در موارد مسمومیت با داروهایی از نوع دی کومارول است . شکل کینون ویتامین K از مرحله مهار شده اپوکسید ردوکتاز عبور کرده (bypass) و منبع بالقوه ای از شکل هیدروکینون فعال ویتامین k را فراهم می کند .

بیماری خونریزی دهنده نوزادان ناشی از کمبود ویتامین K است

ویتامین K انتشار وسیعی در نسوج گیاهی و حیوانی که به عنوان غذا مصرف می شوند ، داشته و تولید این ویتامین توسط فلور میکروبی روده عملاً کمبود غذایی این ویتامین را در افراد بزرگسال از بین می برد با این حال ، نوزادان در معرض کمبود این ویتامین هستند ، زیرا جفت این ویتامین را به طور مؤثری به جنین نمی رساند و روده نوزاد بلافاصله پس از تولد استریل است . غلظت پلاسمایی این ویتامین در نوزادان طبیعی بلافاصله پس از تولد کاهش یافته و با جذب مواد غذایی افزایش می یابد . چنانچه مقدار پروترومبین تا حد بسیار پائینی کاهش یابد ، ممکن است سندرم خون ریزی دهنده (hemorrhagic syndrome) ایجاد شود .

کمبود ویتامین K ممکن است ناشی از سوء جذب مواد چربی باشد که می تواند با اختلال عملکرد پانکراس ، بیماری مجاری صفراوی ، آتروفی مخاط روده یا هر علت دیگر استئاتوره همراه باشد . علاوه بر این ، استریل شدن روده بزرگ توسط آنتی بیوتیک ها در صورتی که مصرف غذایی این ویتامین در حد محدودی باشد ، می تواند موجب کمبود این ویتامین شود .