بسم الله الرحمن الرحيم

١٣٠٩٨

دانشگاه شهید بـهشتی

دانشکده علوم

گروه شیمی

پایـان نامه دوره کـارشناسی ارشد شیمی فیزیک

موضوع:

اثر حلال پروپانول بر ثابت اتوپروتولیز و ثابت های پروتونه شدن تریپتوفان

استاد راهنما:

جناب آقای دکتر فرخ قریب

مرکز اطلاعات مدارک علمی
تحویل مدارک

نگارش:

آرزو ماستری فراهانی

بهمن ۱۳۸۷

۱۳۸۸/۱۱/-۶

۱۳۰۲۹۸

تاریخ .....
شماره .....
پیوست.....

دانشگاه شهید بهشتی

بسمه تعالی

«صورتجلسه دفاع پایان نامه دانشجویان دوره کارشناسی ارشد»

تهران ۱۹۸۳۹۶۳۱۱۳ اوین
تلفن: ۲۹۹۰۱

بازگشت به مجوز دفاع شماره مورخ جلسه هیأت داوران ارزیابی پایان نامه خانم آرزو ماستری فراهانی به شماره شناسنامه ۲۳۲۳۹صادره از تهران متولد۱۳۵۷ دانشجوی دوره کارشناسی ارشد ناپیوسته رشته شیمی – شیمی فیزیک

با عنوان :

اثر حلال پروپانول بر ثابت اتو پروتولیز و ثابت های پروتونه شدن تریپتوفان

به راهنمائی:

آقای دکتر فرخ قریب

طبق دعوت قبلی در تاریخ / /۱۳۸۷ تشکیل گردید و براساس رأی هیأت داوری و با عنایت به ماده ۲۰ آئین نامه کارشناسی ارشد مورخ ۷۵/۱۰/۲۵ پایان نامه مزبور با نمره ۱۹/۸ درجه عالی مورد تصویب قرار گرفت.

۱ -استاد راهنما:آقای دکتر فرخ قریب

۲- استاد مشاور: ----------

۳- استاد داور: خانم دکتر منصوره زاهدی

۴- استاد داور و نماینده تحصیلات تکمیلی : آقای دکتر کریم زارع

۵ – معاون آموزشی و تحصیلات تکمیلی دانشکده : خانم دکتر زهره حبیبی کرهرودی

با تشکر

از جناب آقای دکتر قریب به پاس راهنمایی های ارزنده ایشان.

تقدیم به

خانواده عزیزم که در تمام مراحل زندگی پشتیبانم بودند.

فهرست مطالب

عنوان ---------- صفحه
چکیده ---------- ۱

فصل اول:اسیدهای آمینه و تریپتوفان

۱-۱- اسیدهای آمینه ---------- ۲
۱-۱-۱- مقدمه ---------- ۲
۱-۱-۲- ساختار اسید آمینه ---------- ۲
۱-۱-۳- ویژگی های آمینواسیدها ---------- ۴
۱-۱-۴- ایزومری دراسیدهای آمینه ---------- ۴
۱-۱-۵- انواع اسیدهای آمینه ---------- ۴
۱-۱-۶- اهمیت زیست پزشکی آمینواسیدها ---------- ۵
۱-۲- تریپتوفان ---------- ۶
۱-۲-۱- تولید صنعتی و بیوسنتزی تریپتوفان ---------- ۶
۱-۲-۲- عملکرد تریپتوفان ---------- ۷
۱-۲-۳- تریپتوفان و اثر آن روی کربوهیدراتها و چاقی ---------- ۱۰
۱-۲-۴- تریپتوفان و افسردگی ---------- ۱۲
۱-۲-۵- استفاده عمومی تریپتوفان ---------- ۱۳
۱-۲-۶- تریپتوفان و خواب ---------- ۱۴
۱-۲-۷- تریپتوفان و ۵- هیدروکسی تریپتوفان ---------- ۱۴
۱-۲-۸- منابع رژیم غذایی ---------- ۱۵
۱-۲-۹- استفاده از تریپتوفان به عنوان مکمل غذایی ---------- ۱۶

فصل دوم: اثر حلال

۲-۱-اثر حلال ---------- ۱۷
۲-۱-۱- مقدمه ---------- ۱۷
۲-۱-۲- طبقه بندی حلال ---------- ۱۸
۲-۱-۲-۱- طبقه بندی حلال بر اساس ساختار شیمیایی ---------- ۱۹
۲-۱-۲-۲- طبقه بندی حلال بر اساس ثابتهای فیزیکی ---------- ۲۰
۲-۱-۲-۳- طبقه بندی حلال بر اساس بر هم کنش حلال- حل شونده ---------- ۲۰
۲-۱-۳- قطبیت حلال ---------- ۲۱

فهرست مطالب

۲-۲- روش های چند پارامتری ---------- ۲۵
۲-۳- برهم کنش حلال- حل شونده ---------- ۲۹
۲-۳-۱- روش کلی تعیین برهم کنش حلال- حل شونده ---------- ۳۰
۲-۳-۲- کمیت قطبیت Z ---------- ۳۱
۲-۳-۳- کمیت قطبیت E_T ---------- ۳۳
۲-۳-۴- کمیت قطبیت π^* ---------- ۳۷
۲-۳-۵- قدرت دهندگی و گیرندگی پیوند هیدروژنی ---------- ۳۸

فصل سوم: بخش تجربی

۳-۱- روش کلی کار ---------- ۴۱
۳-۲- نمونه ای از تحقیقات گذشته ---------- ۴۴
۳-۳- محاسبات کلی ---------- ۴۶
۳-۴- مواد شیمیایی ---------- ۵۳
۳-۵- دستگاههای مورد استفاده ---------- ۵۳
۳-۶- شرح آزمایش ها ---------- ۵۴

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

۴-۱- بحث در روابط K_w, K_1, K_2 ---------- ۶۰
۴-۱-۱- محاسبه ثابت اتوپروتولیز ---------- ۶۲
۴-۱-۲- محاسبه ثابت پروتونه شدن ---------- ۶۴
۴-۲- نتیجه گیری ---------- ۶۷
۴-۲-۱- بررسی نتایج ثابت اتوپروتولیز ---------- ۶۸
۴-۲-۲- بررسی نتایج ثابتهای پروتونه شدن تریپتوفان ---------- ۶۸
پیوست ---------- ۷۴

چکیده

امروزه بحث تأثیر حلال برروی روابط وکمیت های شیمی فیزیکی از مهمترین چالش های محققـان در این زمینه می باشد. بررسی های انجام شده بر روی مخلوط حلال های آلی مختلـف بـا آب روابـط کـاملاً متفاوتی را نتیجه داد. در برخی حلالها با افزایش میزان حلال روند افـزایش در ثابتهـای شـیمی فیزیکـی مشاهده شده در صورتیکه در برخی دیگر این روند بصورت کاهشی بروز می کرد. بـه نظـر مـی رسـد هـر مخلوط تابع روابط ویژه مربوط به خود می باشد بطوریکه نمی توان این روابط را به یکدیگر تعمیم داد.

مطالعه ما بر روی مخلوط حلال آب – پروپانول توسط تکنیک پتانسیو متـری انجـام شـد و سـپس بـا استفاده از رابطه نرنست مقدار ثابت اتوپروتولیز و با استفاده از روش fitting مقادیر ثابتهای پروتونه شدن تریپتوفان در درصدهای مختلف در مخلوط حلال به دست آمد سپس اثر پارامترهای کاملـت – تفـت بـر روی این سه ثابت بررسی شد تا مشخص شود که کدام یک از پارامترهای π^* , β , α تأثیر بیشـتری بـر مخلوط حلال خواهد داشت.

فصل اول:

اسیدهای آمینه و

تریپتوفان

۱-۱- اسیدهای آمینه

۱-۱-۱- مقدمه

پروتئینها زنجیره های خطی یا پلیمرهایی هستند که از ترکیب اسیدهای آمینه حاصل می شوند. اسیدهای آمینه حروف الفبایی پروتئینها را تشکیل می دهند. چون امکانات بالقوه ی نامحدودی در طرز توالی و طول زنجیره اسید آمینه ها در تولید پروتئینها وجود دارد از این رو انواع متعددی از پروتئینها نیز می توانند وجود داشته باشند. اختلاف هر اسید آمینه با سایر اسیدهای آمینه در زنجیره جانبی هر یک از آنها است. اسیدهای آمینه در آغاز تشکیل زمین به همراه سایر مواد آلی پیدا شدند. اسیدهای آمینه تنوع بسیار دارند اما به دلایلی ناشناخته تنها ۲۰ نوع از آنها آن هم از نوع L در یاخته زنده کاربرد دارند. به دلیل اینکه پروتئینها نقش مهمی در سلولها انجام می دهند در نتیجه اسیدهای آمینه اهمیت خاصی در میان سایر ترکیبات شیمیایی دارند[۱].

۱-۱-۲- ساختار اسید آمینه

هراسید آمینه (به استثناء گلیسین) از یک کربن نا متقارن به نام کربن α تشکیل شده است که با ۴ گروه مختلف کربوکسیل،اتم هیدروژن،گروه آمینه بازی و یک زنجیره غیر جانبی R پیوند برقرار می کند. ریشه R ممکن است یک زنجیر کربنی یا یک حلقه کربنی باشد. عوامل دیگری مانند

الکل،آمین،کربوکسیل و گوگرد نیز می توانند درساختمان R شرکت کنند. زنجیره جانبی خود شامل چندین اتم کربن است که به ترتیبی که از کربن α فاصله می گیرند با حروف β- γ- δ نشان داده می شوند.اگر عامل COOH روی کربن α و عامل NH_2 روی کربنهای غیر α قرار گیرد نوع اسید آمینه به β- γ- δ تغییر می کند.

بیشتر اسیدهای آمینه α در سنتز پروتئینها شرکت می کنند در صورتیکه اسیدهای آمینه β- γ- δ واسطه های شیمیایی هستند. به دلیل وجود عامل کربوکسیل وعامل آمین، آمینو اسیدها می توانند بصورت زیر تفکیک شوند:

$$R\text{-}CH(NH_3^+)\text{-}COOH \rightarrow R\text{-}CH(NH_3^+)\text{-}COO^- + H^+$$

$$R\text{-}CH(NH_3^+)\text{-}COO^- \rightarrow R\text{-}CH(NH_2)\text{-}COO^- + H^+$$

عامل COOH با بازها و عامل آمین با اسیدها نمک تولید می کنند. بیشتر اسیدهای آمینه در حدود pH=7 به صورت دو قطبی در می آیند یعنی NH_2 پروتون گرفته و COOH پروتون از دست می دهد[۲].

۱-۱-۳- ویژگیهای آمینو اسیدها

اسیدهای آمینه در حلالهای قطبی مثل آب یا اتانول حل می شوند اما هر چه حلال غیر قطبی تر باشد حلالیت آمینو اسید در آن کمتر خواهد بود. یعنی درحلالهایی مثل بنزن و هگزان نا محلولند. نقطه ذوب این ترکیبات بالاست یعنی دارای شبکه بلور پایداری هستند[۳].

۱-۱-۴- ایزومری در اسیدهای آمینه

مطابق قرار داد اگر ساختمان فضایی یک اسید آمینه را در نظر بگیریم چنانچه عامل NH_2 که به کربن α متصل است در طرف چپ باشد اسید آمینه از نوع L و هر گاه عامل NH_2 درطرف راست کربن α قرار گیرد اسید آمینه از نوعD خواهد بود. برخلاف قندهای طبیعی که از نوع D هستند اسیدهای آمینه طبیعی همگی از نوع L می باشند این ایزومرها را انانتیومر می گویند[۴].

۱-۱-۵- انواع اسیدهای آمینه

آمینو اسیدها را به دو دسته ضروری و غیر ضروری تقسیم می کنند :

اسیدهای آمینه ضروری که سلولها قادر به سنتز آن نمی باشند و فقط در گونه های مختلف مواد غذایی مثل گوشت و تخم مرغ وجود دارد. این مواد پس از ورود به دستگاه گوارش هضم شده و تبدیل به اسیدهای آمینه مختلف می شوند. در صورتیکه اسیدهای آمینه غیر ضروری توسط سلولها از سایر مواد ساخته می شوند[۵].

همچنین میتوان اسیدهای آمینه را از روی تعداد عامل کربوکسیل وعامل آمین نیز به گروههای زیر دسته بندی کرد:

منو اسیدهای منو آمینه : مانند گلیسین و آلانین

دی اسیدهای منو آمینه : مانند اسید اسپارتیک

اسید آمینه های دی آمین : مانند آرژینین

۱-۱-۶- اهمیت زیست پزشکی آمینو اسیدها

پروتئینها اعمال متفاوتی را در بدن انجام می دهند. اکثر اعمال حیاتی بدن انسان شامل حمل و نقل اکسیژن و دی اکسید کربن، اعمال ساختمانی و پیام رسانی توسط پروتئینها انجام می شوند، همچنین بسیاری از هورمونهای اصلی بدن نیز از نوع پروتئین می باشند.

به دلیل اینکه بسیاری از بیماریها به دلیل وجود مقدار ناکافی از برخی پپتیدها در بدن بروز می کند می توان با مصرف غذاهای پروتئین دار یا داروهای حاوی اسیدهای آمینه مورد نظر برای اصلاح بیماری اقدام نمود،مثلاًحبوبات دارای مقادیر تریپتوفان ولیزین هستند همچنین منابع پروتئین دیگری مثل شیر،گوشت که می توانند مورد استفاده قرار گیرند[۶].

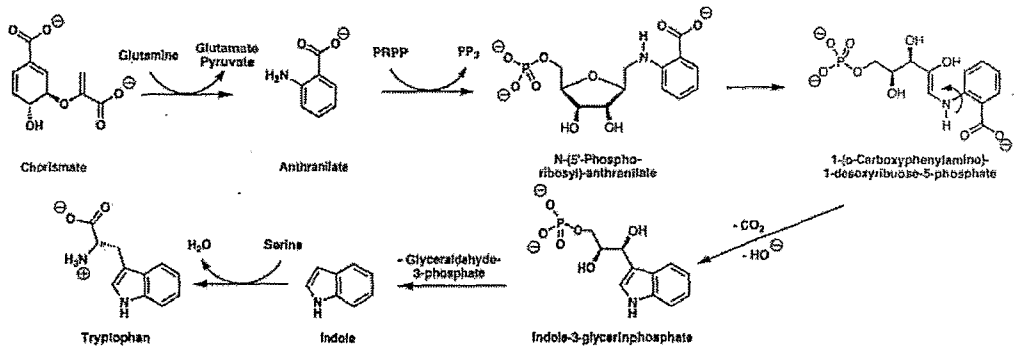
۱-۲- تریپتوفان

تریپتوفان یکی از هشت اسید آمینه ضروری است که در رژیم غذایی افراد یافت می شود.اسید آمینه های ضروری باید در غذاها یا مکمل ها وجود داشته باشد. در صورتیکه اسید آمینه های غیر ضروری که ۱۴مورد می باشند از اسید آمینه های ضروری یا از اسید آمینه های غیرضروری دیگر ساخته می شوند. این اسید آمینه دارای کد ژنتیکی UGG و دارای دو ساختار L وD می باشد.ایزومر نوری نوع L به نام L-tryptophan درساختار پروتئین های آنزیمی استفاده میشود. اما نوع ایزومر D آن گهگاه در پپتیدهای طبیعی دیده شده است.

جداسازی تریپتوفان اولین بار توسط سر فردریک هاپکینز در ۱۹۰۱ در طی هیدرولیز کاسئین گزارش شد از هر ۶۰۰ گرم کاسئین خالص ۴-۵ گرم تریپتوفان به دست آمد[۷].

۱-۲-۱- تولید صنعتی و بیوسنتزی تریپتوفان

گیاهان و میکرو ارگانیزم ها به طور طبیعی تریپتوفان را از شیکمیک اسید یا آنترانیلیت سنتز می کنند. تراکم بعدی با فسفو ریبوزیل پیروفسفات (PRPP) پیروفسفات را به عنوان یک پیش محصول تولید می کند. بعد از باز شدن حلقه ریبوز ایندول ۳- گلیسیرین فسفات تولید می شود که بعداً به حلقه ایندول تبدیل می گردد. در مرحلهٔ آخر کاتالیزور سنتز تریپتوفان، تریپتوفان را از ایندول و اسید آمینه سرین می سازد.(شکل ۱-۲)

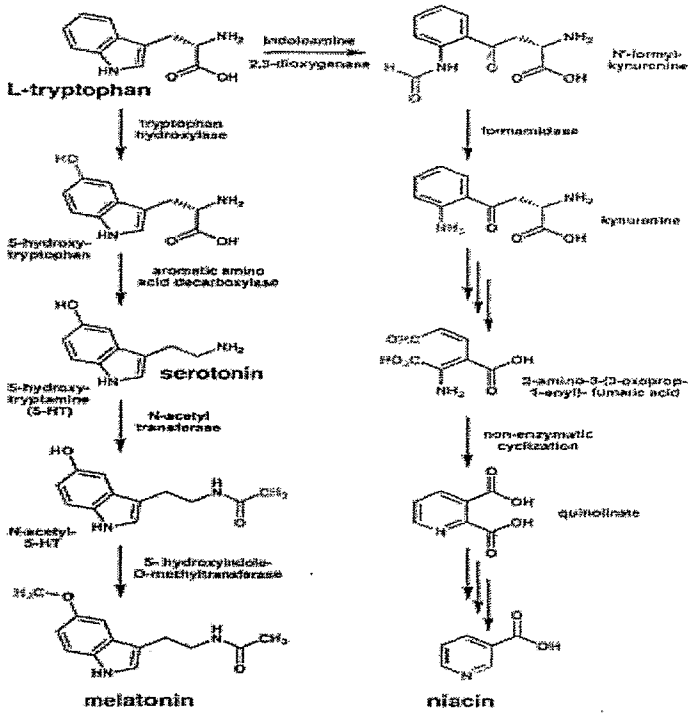


شکل (۱-۲)

تولید صنعتی تریپتوفان نیز یک واکنش بیوسنتزی است و بر تخمیر سرین و ایندول پایه ریزی می شـود این تبدیل توسط آنزیم سنتز تریپتوفان کاتالیز می گردد[۷].

۱-۲-۲- عملکرد تریپتوفان

تبدیل L تریپتوفان به سروتونین و ملاتونین (چپ) و نیاسین (راست) (شـکل ۱-۳) تغییر شکل گروههـای عاملی بعد از هر واکنش شیمیایی با رنگ قرمز مشخص شده است.



شکل (۱-۳)

برای بسیاری ارگانیزم های بدن انسان تریپتوفان یک اسید آمینه ضروری است. به این معنی که این اسید آمینه نمی تواند توسط ارگانیزم ها سنتز شود. بنابراین باید همواره در رژیم غذایی افراد وجود داشته باشد. آمینو اسیدهایی شامل تریپتوفان به عنوان یک پیش ماده بیوشیمیایی برای ترکیبات زیر می باشند:

سروتونین:(یک انتقال دهنده عصبی) مطالعات بر روی انسانها و حیوانات در ۳۰ سال گذشته نشان می دهد که سروتونین سبب احساس اطمینان و آرامش در افراد می باشد. سروتونین همچنین به تعادل بین دوپامین و نور آدرنالین که در بیداری، ترس، خشم، هیجان، پرخوری، اضطراب و خواب نا آرام مؤثر است کمک می کند. نشان داده شده است که سندرم کمبود سروتونین مشکلات رفتاری و احساسی

زیادی را در فرد ایجاد می کند که شامل گستره ای از مشکلات افسردگی، اعتیاد به الکل، بی خوابی و خود کشی می باشد. سروتونین توسط تریپتوفان هیدروکسیلاز ساخته می شود و درادامه می تواند توسط N – استیل ترانسفراز و ۵- هیدروکسی ایندول O- متیل تراسفراز به ملاتونین که یک هورمون عصبی است تبدیل شود[۸].

نیاسین: نیاسین به دو شکل ویتامین یعنی نیکوتین آمید و نیکوتینیک اسید اطلاق می شود. نیاسین یک ویتامین محلول درآب و یکی از ویتامینهای ب کمپلکس به نام B_3 می باشد این ویتامین دربرابر نور، اکسیژن، حرارت و محیط اسیدی و قلیایی مقاوم است. نیاسین توسط کینورنین و کوینولینیک اسید به عنوان کلید حد واسط بیوسنتزی از تریپتوفان ساخته می شود. به نظر می رسد تریپتوفان توسط کبد برای تولید ویتامین B_3 استفاده می شود. به طوریکه از هر ۷-۱۰ میلی گرم تریپتوفان ۱- میلی گرم B_3 به دست می آید. اختلال در جذب فروکتوز سبب جذب نا مناسب تریپتوفان درروده و در نتیجه کاهش سطح تریپتوفان در خون و افسردگی می شود.

در باکتریهایی که تریپتوفان را سنتز می کنند سطح بالای این اسید آمینه در سلول یک پروتئین بازدارنده را فعال می کند که به trp اپرون[۱] متصل می شود اتصال این بازدارنده به تریپتوفان operon مانع نسخه برداری از انتهای زنجیر DNA که شامل کدهایی برای آنزیم ها در تولید بیوسنتزی تریپتوفان

---

[۱] operon

است می شود . بنابراین سطح بالای تریپتوفان مانع از سنتزتریپتوفان می شود. هنگامیکه سطح سلولی تریپتوفان کاهش می یابد نسخه برداری از trp operon از سر گرفته می شود. سازمان ژنتیکی trp operon با تغییر در سطح تریپتوفان درون و بیرون سلول پاسخ های سریع و محکمی ارائه می دهد[۷].

۱-۲-۳- تریپتوفان و اثر آن روی کربوهیدراتها و چاقی

خوردن مقدار زیاد پروتئین در رژیم غذایی برای تولید مقدار بیشتر تریپتوفان باعث افزایش ۵ اسید آمینه دیگریعنی تیروسین، فنیل آلانین، والین، لوسین و ایزولوسین نیزخواهد شد. پس تنها رژیم غذایی که تریپتوفان مغز را افزایش می دهد خوردن مقدار زیادی کربوهیدرات در رژیم غذایی است. هنگامیکه مقدار زیادی کربوهیدرات خورده می شود بدن مقدار زیادی هورمون انسولین را برای پایین نگه داشتن میزان قند خون ترشح می کند. انسولین همچنین ۵ اسید آمینه ای را که با تریپتوفان برای ورود به مغز رقابت می کنند را از خون پاک می کند. این روش برروی افرادی که مقدار زیادی کربوهیدرات شبیه نان، کیک، بستنی و شکلات می خورند بویژه هنگامیکه آنها احساس اضطراب یا استرس دارند آزمایش شده است. به عبارت دیگرانسولین به همان نسبتی که تبدیل چربی و کربوهیدرات خون را به چربی ذخیره شده دربدن افزایش می دهد سروتونین مغز را نیز زیاد می کند. در نتیجه اضافه شدن کربوهیدرات با افزایش سروتونین ارتباط دارد.

در شرایط نرمال آنزیم تریپتوفان هیدروکسیلاز (TH) تنها ۵۰٪ اشباع است. به این معنی که سروتونین ۵۰٪ تولید خواهد شد. بنابراین افزایش میزان تریپتوفان به طور اتوماتیک منجر به افزایش سروتونین تولید شده درمغز خواهد شد. تریپتوفان هیدروکسیلاز، تریپتوفان را به ۵- هیدروکسی تریپتوفان تبدیل می کند. سپس یک آنزیم کربوکسیلاز 5-HTP را به سروتونین تبدیل می کند. سروتونین اثر بیشتری درآرامش، حوصله، تحرک و اشتها که توسط این هورمون کنترل می شود خواهد داشت. دربسیاری از مطالعات کلینیکی منتشر شده از سال ۱۹۷۰ بر روی افرادی که از تریپتوفان برای درمان افسردگی استفاده می کنند نشان داده شده است که استفاده ازدزملایم تریپتوفان (۱تا ۳ گرم درروز) نتایج بهتری را نسبت به دزهای بالا (۶تا ۹ گرم در روز) در بر خواهد داشت.

یک آنزیم به نام تریپتوفان پیرولیز که درکبد ساخته می شود می تواند تریپتوفان را بشکند. مشخص شده است که آنزیم تریپتوفان پیرولیز با کم شدن دو فاکتور در بدن فعال می شود. اولین فاکتور هورمونی به نام کورتیزول است. کورتیزول که توسط غدهٔ آدرنال تولید می شود هورمون استرس خوانده می شود. این هورمون در پاسخ به اضطراب و استرس های مداوم آزاد می شود همچنین آشکار شده است که کورتیزول درشرایط افسردگی و بی خوابی نیز افزایش می یابد. فاکتور دیگری که فعالیت آنزیم تریپتوفان پیرولیز را افزایش می دهد خود تریپتوفان است چون تریپتوفان پیرولیز سبب کاهش میزان تریپتوفان خواهد شد. پس تریپتوفان به طور اتوماتیک موجب افزایش فعالیت تریپتوفان پیرولیز می شود. اگر فعالیت

تریپتوفان پیرولیز کبد افزایش یابد الزاماً تریپتوفان کاهش یافته و نمی تواند پاسخ گوی رشد سروتونین مغز باشد. بنابراین کمترین دز تریپتوفان که بتواند کمبود سروتونین را بر طرف کند مناسبترین دارو خواهد بود. مدارک پزشکی نشان می دهد که مصرف هر ۵۰۰ تا ۱۵۰۰ میلی گرم تریپتوفان در هنگام خواب برای از بین بردن مشکلات ناشی ازکمبود سروتونین کافی خواهد بود.

نیاسین آمید (ویتامین B_3) از ترشح تریپتوفان پیرولیز کبد جلوگیری می کند. همچنین این ویتامین آنزیمی را فعال میکند که تریپتوفان را به 5-HTP تبدیل می کند. پس دریافت ۱۰۰ میلی گرم B_3 چندین مرتبه از طریق غذای روزانه اثر دز پایین تریپتوفان را افزایش می دهد.گرفتن ۲۵-۵۰ میلی گرم ویتامین B_6 یک یا دو بار به همراه غذا تبدیل تریپتوفان به سروتونین را افزایش می دهد زیرا B_6 آنزیم دکربوکسیلاز را فعال می کند که 5-HTP را به سروتونین تبدیل می کند[۸].

۱-۲-۴- تریپتوفان و افسردگی

تحقیقات منتشر شده توسط S.N.Young & H.M.Praag (دو نفرازمعروفترین محققان که بر روی متابولیسم تریپتوفان – سروتونین و اثر بیولوژیکی آنها مطالعه کرده- اند) بیان می کند که تریپتوفان سودمندترین دارو برای افرادی است که از افسردگی رنج می برند. نوعی از افسردگی که یانگ به نام اضطراب معنی کرد هنگامی اتفاق می افتد که چرخهٔ فعالیت دوپامین – نورآدرنالین درحالت بیداری به شدت فعال شود. مشاهدات یانگ این نظریه را اثبات کرد که چرخه فعالیت سروتونین برای متعادل کردن