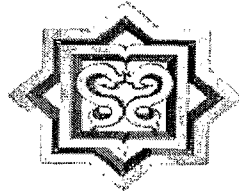


بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

۹۹۳۵۴



دانشگاه علوم پزشکی کرمان
دانشکده پزشکی افضل پور

پایان نامه جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد بیوشیمی

عنوان:

جستجوی خاصیت بازدارندگی تعدادی عصاره گیاه بر روی
آنزیمهای گلیکوزیداز و مطالعه اثر پنج عصاره مؤثر بر آنزیم
آلفا گلوکوزیداز بر کاهش قند خون در رتهای سالم و دیابتی

استاد راهنما:

دکتر احمد غلامحسینیان

استاد مشاور:

خانم دکتر فریبا شریفی فر

پژوهش و نگارش:

حسین فلاح مهدی آباد

تیر ماه ۸۷

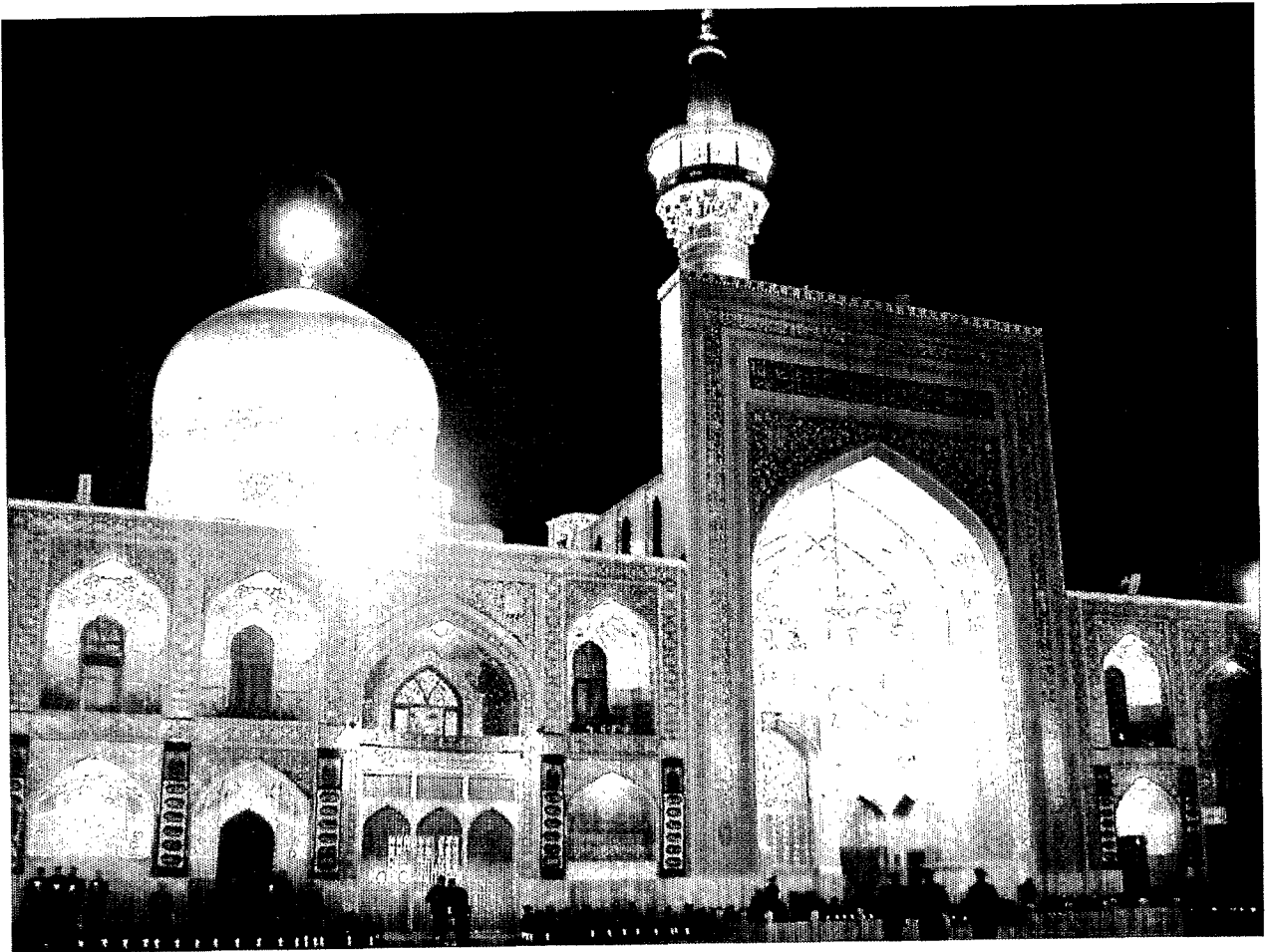
۹۹۳۵۴



۱۳۸۷ / ۹ / ۱۱

تقدیم بہ آستان مقدس

حضرت علی بن موسی الرضا (ع)



تقدیم به **پدر و مادرم** که احساس حضورشان، مطمئن ترین و بودن در کنارشان لذت بخش ترین است.

و **برادرانم** و خانواده های محترمشان که همواره لطفشان شامل حال من بوده است.

و برادرزاده ام ، **امیر صالح** که برق نگاه کود کانه اش سرشار از محبت است.

با تشکر فراوان از استاد گرانقدر

جناب آقای دکتر غلامحسینیان

که در طی این مدت همواره با سعه صدر مرا از راهنماییهای ارزشمندشان بهره مند و با پیگیری و همکاری دایم خویش ، در انجام این پروژه بزرگترین پشتیبانم بودند.

با تشکر از سرکار خانم دکتر شریفی فر و جناب آقای دکتر میرتاج الدینی که در تهیه و شناسایی گیاهان این طرح ما را یاری نمودند.

با تشکر از سایر اساتید گروه بیوشیمی جناب آقای دکتر محمدی که همواره از کلاسهای ارزشمندان به نیکی یاد خواهم کرد، و همچنین جناب آقای دکتر جهرمی و دکتر مشتاقی که از راهنماییشان بهره بردم.

باتشکر از خانم حسینی نژاد و پرسنل زحمتکش گروه بیوشیمی، جناب آقای نیک طبع، خانم امیری، خانم محی آبادی، خانم طاهری و خانم لنگرودی که در انجام این پروژه کمک بزرگی به من کردند.

با تشکر از سرکار خانم دکتر اخوتی و جناب آقای دکتر حقدوست که بدون شک کلاسهای این عزیزان از مفیدترین کلاسهای دوره تحصیل بوده است.

با تشکر از جناب آقای دکتر فصیحی مدیر تحصیلات تکمیلی دانشگاه و سرکار خانم شریفی مسئول آموزش تحصیلات تکمیلی

و با تشکر از جناب آقای شاهرخی که کار بارت را از ایشان آموختم و سرکار خانم مهدوی مسئول آزمایشگاه مفردات پزشکی دانشکده داروسازی که در امر عصاره گیری مرا یاری نمودند.

با تقدیر فراوان از مسئولین سایت کامپیوتر کارشناسی ارشد خانم مهندس خواجه پور، خانم وکیلی و خانم ثانی و مسئولین کتابخانه دانشکده پزشکی

و با تشکر از کارکنان حیوانخانه های دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی

و با تشکر فراوان از

برادرانم : محمد و حجت

همکلاسیهایم: خانم حسنی فرد، آقایان نوروزی و طالبی

هم اتاقیهایم: آقایان: شاکری، حیدری، فتح الهی، خراسانی، زینیا و ابراهیمی

و سایر دوستانم: آقایان عبدالعلیان، یزدانی، گودرزی، کلاتی، اکبری زاده، علی آبادی،

برزگر و مساحی

و دوستان عزیزم در دوره کارشناسی ارشد:

آقایان داریوش فروهر، عباس محمدی پور، امید تاجور، محمد سواری، هیوا حسینی،

کیانوش احمدیان، داوود کلانتر، بیدالله شاهوزهی، حجت کاکایی، مصطفی لطیف

پور، علی هاشمی، محمد براتی، سعید شمس، عباس آقایی، خالد داشن، رضا قرایی

و کیوان شمس

و خانمها اقدامی، میرزایی، معززی، مشکدانیان، ابوالحسن نژاد، قدیری و عباسی

و با درود به روان پاک **مرحوم افضلی پور** بنیانگذار دانشگاه کرمان

فهرست مطالب:

۱	چکیده
فصل اول: مقدمه	
۳	۱-۱) اهمیت دارویی گیاهان
۳	۱-۱-۱) گیاهان و اثر بر روی CNS
۴	۱-۱-۲) گیاهان و اثر بر روی سیستم قلبی- عروقی
۴	۱-۱-۳) گیاهان و کنترل ایدز
۵	۱-۱-۴) گیاهان و کنترل سرطاناتها
۷	۱-۲) آنزیمها
۸	۱-۲-۱) مفهوم مقادیر V_{max} و K_m
۸	۱-۲-۲) مهار کننده های آنزیمی
۹	۱-۲-۳) انواع مهار آنزیمی
۹	۱-۲-۳-۱) مهار برگشت ناپذیر
۹	۱-۲-۳-۲) مهار برگشت پذیر
۹	۱-۲-۳-۲a) مهار رقابتی
۱۰	۱-۲-۳-۲b) مهار غیر رقابتی
۱۰	۱-۲-۳-۳c) مهار نارقابتی
۱۰	۱-۲-۳-۴d) مهار مخلوط
۱۱	۱-۲-۴) اهمیت مهار کننده های آنزیمی
۱۱	۱-۲-۴-۱) سموم و مهار فعالیت آنزیمها
۱۲	۱-۲-۴-۲) داروها و مهار فعالیت آنزیمها
۱۴	۱-۲-۵) گیاهان و مهار فعالیت آنزیمی
۱۷	۱-۳) گلیکوزیدازها
۱۸	۱-۳-۱) گلیکوزیدازها و متابولیسم گلیکوپروتئین ها
۲۰	۱-۳-۲) گلیکوزیدازها و متابولیسم گلیکولیپیدها
۲۰	۱-۳-۳) مهار کننده های گلیکوزیدازهای لیزوزومی و اثر چاپرونهای شیمیایی
۲۲	۱-۳-۴) گلیکوزیدازها و اثرات ضد ویروسی
۲۵	۱-۳-۵) گلیکوزیدازها و اثرات ضد سرطانی
۲۶	۱-۳-۶) گلیکوزیدازها و اثرات ضد دیابتی
۲۶	۱-۳-۶-۱) مهار کننده های آلفا گلوکوزیداز
۲۷	۱-۳-۶-۲) مهار کننده های گلیکوژن فسفریلاز کبدی
۲۸	۱-۴) دیابت ملیتوس

۲۸ شیوع دیابت (۱-۴-۱)
۲۹ انواع دیابت ملیتوس (۱-۴-۲)
۲۹ دیابت نوع I (دیابت وابسته به انسولین) (۱-۴-۲-۱)
۲۹ دیابت نوع II (دیابت غیر وابسته به انسولین) (۱-۴-۲-۲)
۲۹ انواع خاص دیابت (۱-۴-۲-۳)
۳۰ تحمل گلوکز مختل شده (IGT) (۱-۴-۲-۴)
۳۰ گلوکز ناشتای مختل شده (IFG) (۱-۴-۲-۵)
۳۰ دیابت حاملگی (GDM) (۱-۴-۲-۶)
۳۱ تشخیص دیابت (۱-۴-۳)
۳۲ درمان دیابت (۱-۴-۴)
۳۲ دیابت نوع I (۱-۴-۴-۱)
۳۳ دیابت نوع II (۱-۴-۴-۲)
۳۳ سولفونیل اوره ها (Sulfonylurea) (۱-۴-۴-۲a)
۳۳ بی گوانیدها (Biguanides) (۱-۴-۴-۲b)
۳۳ تiazolidine (Thiazolidine) (۱-۴-۴-۲c)
۳۴ مگلیتینیدها (Meglitinides) (۱-۴-۴-۲c)
۳۴ مهار کننده های آلفا گلوکوزیداز (۱-۴-۴-۲d)
۳۶ قند خون پس از غذا (۱-۴-۵)
۳۷ نقش آنتی دیابتی گیاهان (۱-۴-۶)
۳۹ مهار کننده های آنزیم آلفا گلوکوزیداز با منشأ گیاهی (۱-۴-۷)
۴۱ هدف ما در این مطالعه (۱-۵)

فصل دوم: مواد و روشها

۴۲ مواد مورد نیاز (۲-۱)
۴۳ جمع آوری گیاهان (۲-۲)
۴۴ عصاره گیری (۲-۳)
۴۴ عصاره آبی (۲-۳-۱)
۴۴ عصاره متانولی (۲-۳-۲)
۴۵ سنجش آنزیمی (۲-۴)
۴۵ اساس آزمایشات (۲-۴-۱)
۴۵ آلفا گلوکوزیداز (EC: ۳, ۲, ۱, ۲۰) (۲-۴-۱-۱)
۴۵ آلفا مانوزیداز (EC: ۳, ۲, ۱, ۲۴) (۲-۴-۱-۲)
۴۶ بتا گلوکوزیداز (EC: ۳, ۲, ۱, ۲۱) (۲-۴-۱-۳)
۴۶ بتا گالاکتوزیداز (EC: ۳, ۲, ۱, ۲۳) (۲-۴-۱-۴)

۴۶(۲-۴-۲) تعیین میزان اثر مهار کنندگی
۴۷(۲-۴-۲-۱) نحوه بررسی اثر مهار کنندگی عصاره ها روی آلفا گلوکوزیداز
۴۸(۲-۴-۲-۲) آلفا مانوزیداز، بتا گلوکوزیداز و بتا گالاکتوزیداز
۴۹(۲-۵) مطالعه سینتیکی
۴۹(۲-۵-۱) آلفا گلوکوزیداز:
۴۹(۲-۵-۱-۱) محاسبه سرعت فعالیت آنزیمی
۵۱(۲-۵-۱-۲) روش انجام آزمایشات
۵۱(۲-۵-۲) آلفا مانوزیداز
۵۲(۲-۶) مطالعه <i>in vivo</i>
۵۲(۲-۶-۱) مطالعه روی رتهای سالم
۵۳(۲-۶-۲) مطالعه روی رتهای دیابتی
۵۴(۲-۶-۳) مطالعه اثر دوزهای مختلف عصاره غنچه گل محمدی بر کاهش قند خون پس از غذا
۵۷(۲-۷) آنالیز داده ها

فصل سوم: نتایج

۵۷(۲-۸) مشخصات گیاهان مورد استفاده و راندمان عصاره دهی آنها
۶۳(۳-۱) آلفا گلوکوزیداز
۶۳(۳-۱-۱) گیاهان با اثر مهار کنندگی بیش از ۷۵%
۶۳(۳-۱-۲) گیاهان با اثر مهار کنندگی ۵۰-۷۵%
۶۴(۳-۱-۳) گیاهان با اثر مهار کنندگی ۲۵-۵۰%
۶۴(۳-۱-۴) گیاهان با اثر مهار کنندگی کمتر از ۲۵%
۶۵(۳-۲) آلفا مانوزیداز
۶۵(۳-۳) بتا گلوکوزیداز
۶۶(۳-۴) بتاگالاکتوزیداز
۶۶(۳-۵) مطالعه کینتیکی
۶۶(۳-۵-۱) آلفا گلوکوزیداز
۶۷(۳-۵-۲) آلفا مانوزیداز
۶۷(۳-۶) اثر کاهندگی قند خون پس از غذا در رتهای سالم و دیابتی
۶۷(۳-۶-۱) عصاره متانولی پوست میوه پسته
۶۸(۳-۶-۲) عصاره متانولی غنچه گل محمدی
۶۹(۳-۶-۳) عصاره آبی سرشاخه هوایی آویشن شیرازی
۷۰(۳-۶-۴) عصاره آبی برگ مورد
۷۰(۳-۶-۵) عصاره آبی گال مازو
۷۱(۳-۷) بررسی اثر دوزهای مختلف عصاره متانولی غنچه گل محمدی

- ۳-۸) میزان اثر کاهندگی قند خون توسط عصاره متانولی غنچه گل محمدی پس از مصرف ساکارز ۷۲
- ۳-۹) اثر کاهندگی قند خون توسط عصاره متانولی غنچه گل محمدی پس از مصرف گلوکز ۷۳
- ۳-۱۰) جدولها و نمودارها ۷۳

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

- بحث ۱۳۱
- ۴-۱) آلفا گلوکوزیداز ۱۳۲
- ۴-۲) آلفا مانوزیداز ۱۳۶
- ۴-۳) بتا گلوکوزیداز ۱۳۷
- ۴-۴) بتا گالاکتوزیداز ۱۳۸
- ۴-۵) سینتیک آنزیمی ۱۳۹
- ۴-۶) اثر عصاره های گیاهی بر روی کاهش قند خون پس از غذا در رتهای سالم و دیابتی ۱۴۱
- ۴-۶-۱) عصاره متانولی پوست میوه پسته (*Pistacia vera*) ۱۴۲
- ۴-۶-۲) عصاره آبی آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) ۱۴۳
- ۴-۶-۳) عصاره آبی مازو (*Quercus infectoria*) ۱۴۴
- ۴-۶-۴) عصاره آبی برگ مورد (*Myrtus communis*) ۱۴۵
- ۴-۶-۵) عصاره متانولی غنچه گل محمدی (*Rosa damascena*) ۱۴۶
- ۴-۷) نتیجه گیری ۱۴۸

- ۱۵۰ REFERENCES
- ۱۷۱ Abstract

چکیده:

آنزیمهای شکننده پیوندهای گلیکوزیدی نقش مهمی در مسیرهای متابولیکی مانند فرآوری گلیکوپروتئینها و گلیکولیپیدها و هضم کربوهیدراتها در دستگاه گوارش بازی می کنند. از میان طیف بسیار وسیع آنزیمها، تصور می شود که گلوکوزیدازها بدلیل شکستن پیوندهای گلیکوزیدی و آزاد کردن گلوکز از انتهای غیر احیاکننده یک الیگوساکارید یا زنجیره های پلی ساکاریدی نقش درمانی بسیار مهمی داشته باشند. مهارکننده های گلوکوزیداز دارای قابلیت های درمانی برای بیماریهای متابولیکی مانند دیابت هستند که با هیپر گلیسمی تظاهر می یابد. روشهای درمانی مختلف مانند رژیم درمانی و دارو درمانی برای کنترل دیابت توصیه می شوند. به دلایل مختلف در سالیان اخیر گیاهان دارویی مورد استفاده در طب سنتی ملل مختلف با مکانیسمهای گوناگون برای کنترل دیابت مورد استفاده قرار گرفته اند. یکی از مکانیسمهای اثر این گیاهان می تواند آنزیمهای گوارشی مانند آلفا گلوکوزیداز باشند که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفته است.

یکصد گونه گیاهی مختلف از طبیعت جمع آوری و یا از مراکز عرضه گیاهان دارویی در شهر کرمان خریداری و با اصول علمی شناسایی شدند. عصاره آبی و متانولی آنها با روش خیساندن تهیه شد. فعالیتهای آنزیمی با روش رنگ سنجی و بوسیله سنجش مقدار P-Nitrophenol آزاد شده از سوسترای P-Nitrophenyl glycoside اختصاصی هر آنزیم ارزیابی شد. نوع مهارکنندگی عصاره های فعال با اندازه گیری فعالیت آنزیمی در غلظتهای مختلف سوسترا و رسم نمودارهای لینیور-برک تعیین شد. در مطالعه درون تنی، تست تحمل قندهای مختلف (گلوکز، مالتوز و ساکارز) در رتهای سالم و دیابتی شده با استرپتوزوتوسین انجام شد.

از میان ۲۰۰ عصاره مورد بررسی عصاره های *Zataria multiflora*، *Verbascum kermanensis*،
Sanguisorba minor، *Pistacia vera*، *Alhagi camelorum*، *Levisticum officinale*
Salvadora، *Alpinia officinarum*، *Zhumeria majdae*، *Vaccinium arcto-staphylus*
Citrus، *Rosmarinus officinalis*، *Thymus serpyllum*، *Lawsonia inermis*، *persica*
aurantium و *Rosa damascena* دارای اثر مهارکنندگی بالای ۵۰٪ بر روی آنزیم آلفا گلوکوزیداز بودند.
Rosa damascena، *Quercus infectoria* و *Punica granatum* اثر مهارکنندگی شدیدی بر روی
آلفا مانوزیداز داشتند. *Rosmarinus officinalis* و *Levisticum officinale* دارای اثر مهارکنندگی بسیار
شدیدی بر روی آنزیم بتا گالاکتوزیداز بوده ولی هیچ یک از گیاهان اثر قابل ذکری بر روی بتا گلوکوزیداز نشان
ندادند. اثر مهارکنندگی عصاره های فعال مورد بررسی بر روی هر دو آنزیم آلفا گلوکوزیداز و آلفا مانوزیداز غیر
رقابتی بود.

Zataria multiflora و *Quercus infectoria* بطور معناداری قند خون پس از مصرف مالتوز را در رت
کاهش دادند. *Rosa damascena* دارای اثر مهارکنندگی بسیار شدید و وابسته به دوز بر هیپر گلیسمی پس از
مصرف مالتوز، گلوکز و ساکارز می باشد بدین ترتیب *Quercus infectoria*، *Zataria multiflora* و
Rosa damascena می توانند کاندیداهای مناسبی برای تنظیم هیپر گلیسمی پس از غذا و پیشگیری از اختلالات
همراه با دیابت مانند رتینوپاتی در این بیماران باشند.

۱-۱) اهمیت دارویی گیاهان:

فسیله‌ها نشان می‌دهند که سابقه استفاده انسان از گیاهان در پزشکی حد اقل به ۶۰۰۰۰ سال پیش بر می‌گردد

بنابراین طب سنتی برای استفاده از گیاهان برای درمان قدمت بسیار زیادی دارد (۳۱).

هدف از استفاده گیاهان بعنوان یک عامل درمانی یکی از موارد ذیل می‌باشد.

۱) جداسازی ترکیبات فعال برای استفاده مستقیم به عنوان دارو

۲) استفاده از این ترکیبات جدید بعنوان ساختارهای الگو برای سنتز محصولات جدیدتر و مؤثرتر

۳) استفاده از همه یا بخشی از گیاه برای درمان (۳۱).

در سالهای اخیر تمرکز روی تحقیقات گیاهی در سراسر دنیا افزایش یافته است. در بین سالهای ۱۹۹۵ تا ۲۰۰۰

حدود ۱۳۰۰ گونه گیاهی مختلف مورد مطالعه قرار گرفته اند. شواهد و اطلاعات بدست آمده، نشان دهنده توانایی

بسیار زیاد گیاهانی است که در فرهنگهای مختلف، در درمان بیماریهای گوناگون مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲۷).

تاکنون گیاهان برای کنترل بیماریها و اختلالات متعددی بکار گرفته شده اند که به اختصار به تعدادی از آنها

اشاره می‌کنیم.

۱-۱-۱) گیاهان و اثر بر روی CNS:

عصاره های گوناگون بدست آمده از دانه های گیاهی به نام *Pongamia pinnata* دوره خواب آلودگی

ناشی از پنتوباریتون را احتمالاً به دلیل فعال کردن سیستمهای آنزیمی میکروزومهای کبدی کاهش می‌دهد (۱۱۹).

عصاره برگ گیاه *Azadirachta indica* در دوزهای پایین اثرات آرامبخشی مشابه دیازپام نشان می‌دهد (۵۰).

درمان دراز مدت با عصاره ریشه *Withania somnifera* تحمل و وابستگی به مورفین را کاهش می‌دهد، در

حالی که خود این گیاه هیچ گونه اثرات تسکینی نشان نداده است (۶۹). همچنین بخشهای^۱ غیر قطبی عصاره برگ گیاه *Vernonia lasiopus* و *Vernonia galamensis* دارای اثرات خواب آوری در موش صحرایی می باشند (۲۷).

علاوه بر اینها گیاهان متعدد دیگری نیز که دارای اثرات ضد تشنج، خواب آور، مسکن، نشاط آور، ضد التهابی، ضد تب و تنظیم کننده عمل نوروترانسمیترها هستند در این زمینه شناسایی شده اند (۲۷).

۱-۱-۲) گیاهان و اثر بر روی سیستم قلبی - عروقی

در مورد اثرات درمانی گیاهان بر روی دستگاه قلبی - عروقی تاکنون مطالعات بسیار زیادی صورت گرفته و نتایج بسیار امیدوارکننده ای بدست آمده است. تابحال چندین گیاه با اثرات ضد انعقادی، کاهش سطح چربی خون، بازدارندگی آنزیم ACE^۲ و محافظت کننده قلبی شناسایی شده اند (۲۷). بعنوان مثال عصاره اتری و متانولی *Araucardia bidwilli* در خرگوش دارای خواص ضد انعقادی است (۲۷). عصاره اتانولی *Vitex leucoxydon* کلسترول توتال سرمی را در موش کاهش می دهد و یا گیاه *Phyllanthus amarus* دارای اثرات دیورتیکی و کاهش دگی فشار خون است (۱۲۲).

۱-۱-۳) گیاهان و کنترل ایدز:

درمان ترکیبی با داروهای شیمیایی ضد HIV که در حال حاضر مورد استفاده قرار می گیرند، طول عمر بیماران آلوده به HIV را افزایش داده است. اما مقاومت دارویی HIV، اثرات جانبی و نیاز به درمان طولانی مدت ضد

^۱ Fractions

^۲ Angiotensin Converting Enzyme

رتروویروسی دلایل اصلی شکست این روشها است و بنا براین ساخت عوامل جدید ضد HIV ضروری بنظر می رسد(۱۳۵). به همین دلیل محصولات طبیعی، بعنوان عوامل بالقوه در ساخت داروها، برای کشف داروهای ضد HIV و یا شناخت ترکیبات راهنما برای ساخت داروهای جدیدتر مد نظر قرار گرفته اند. تا بحال ترکیبات زیادی با اثرات ضد HIV از منابع طبیعی مانند الکلوئیدهای گیاهی جداسازی شده اند که به ذکر تعدادی از آنها بسنده می کنیم(۱۳۵).

دو گیاه *Tuberaria lignisa* و *Sanguisorba minor magnolii* در *in vitro* از خود اثرات ضد HIV نشان دهد(۱۵). یا گیاه *Rhus chinensis* به نظر می رسد که مرحله ورود HIV به سلولها را مهار می کند(۱۳۵). همچنین عصاره برگ *Lobastemon trigonus* احتمالاً بواسطه مهار آنزیم ترانس کریبتاز معکوس ویروس اثرات درمانی خود را بر روی ویروس ایدز اعمال می کند(۴۲).

۴-۱-۱ گیاهان و کنترل سرطانها:

مطالعات بسیار زیادی جهت بکارگیری منابع طبیعی برای کنترل انواع سرطانها انجام شده است. عصاره دانه های *Semecarpus anacardium* اثرات ضد سرطانی خود را بر علیه سلولهای سرطانی رده T47D سرطان پستان با تغییر در توانایی انتقال غشای میتوکندری اعمال می کند(۲۷). در سطح مولکولی، این عصاره باعث کاهش در مقدار پروتئین Bcl2 و افزایش پروتئین های Bax، سیتوکروم C و caspaseها شده و از این طریق سیگنالهای آپوپتوز را فعال می کند(۲۷). عصاره هگزانی ریشه *Echinacea palida* با افزایش Caspaseهای ۳ و ۷ و قطعه قطعه شدن DNA باعث القای آپاپتوز می شود(۲۴). گیاه *Antrodia camphorate* از طریق توقف فاز G2M چرخه سلولی، مهار رشد سلولی و ممانعت از متاستاز اثرات ضد سرطانی روی سلولهای سرطانی مثانه نشان داده است(۱۰۰).

علاوه بر موارد ذکر شده تحقیقات وسیعی در مورد درمان سایر بیماریها با استفاده از منابع گیاهی صورت گرفته است که از جمله می توان به اختلالات سیستم تنفسی، آلرژیها، بیماریهای پوست و استخوان، دستگاه ادراری-تناسلی، معدی-روده ای و ... اشاره کرد(۲۷). انواع گوناگونی از گیاهان نیز تاکنون برای کنترل قند خون بکار گرفته شده اند و اثرات رضایت بخشی از خود نشان داده اند که در مباحث بعدی با تفصیل بیشتری مورد بحث قرار می گیرند.

۲-۱) آنزیمها:

آنزیمها برجسته ترین و اختصاصی ترین پروتئین ها می باشند که دارای قدرت کاتالیتیک فوق العاده بوده و اغلب فراتر از کاتالیزورهای سنتتیک یا آلی عمل می کنند (۸۹). آنزیمها برای سوسترای خود ویژگی بالایی دارند و در محلولهای آبی و تحت شرایط ملایم درجه حرارت و pH عمل می کنند (۸۹). آنزیمها در تمامی فرآیندهای بیوشیمیایی دارای نقش محوری بوده و به صورت آبشاری واکنشهای شیمیایی را هزاران مرتبه سریعتر کاتالیز کرده که بعنوان مثال طی این فرایندها مولکولهای مواد غذایی تجزیه شده، انرژی شیمیایی حفظ و تغییر شکل داده شده و ماکرومولکولهای بیولوژیک را از پیش سازهای ساده سنتز می کنند. همچنین با عمل آنزیم های آلوستریک، مسیرهای متابولیک شدیداً هماهنگ شده و فعل و انفعالاتی را که بین بسیاری از واکنش های مختلف ضروری برای حفظ حیات رخ میدهد کنترل می نماید (۸۹).

مطالعه آنزیمها دارای اهمیت کاربردی بی اندازه ای است. در بعضی از بیماریها، بخصوص ناهنجاریهای ژنتیکی، ممکن است کمبود یا عدم وجود یک یا چند آنزیم وجود داشته باشد. در مورد حالات دیگر بیماری، علت ممکن است افزایش فعالیت یک آنزیم باشد. اندازه گیری فعالیت آنزیمها در پلاسما، گلبول قرمز یا نمونه های بافتی در تشخیص بعضی از بیماریها دارای اهمیت است. بسیاری از داروها اثر خود را از طریق اثر بر آنزیمها اعمال می کند و آنزیمها ابزار عملی مهمی در پزشکی و همچنین در صنعت شیمی، فرآوری مواد غذایی و کشاورزی می باشند (۸۹). از نظر ساختمان نیز به استثناء گروه کوچکی از مولکولهای RNA کاتالیتیک (ریبوزیم ها)، تمامی آنزیمها ساختمان پروتئینی دارند. حفظ ساختمان اول، دوم، سوم، و چهارم برای فعالیت آنها ضرورت دارد (۸۹).

۱-۲-۱) مفهوم مقادیر V_{max} و K_m :

تمایل آنزیمها برای سوبسترا به پارامترهایی مانند K_m و V_{max} بستگی دارند. ثابت میکائلیس (K_m) و سرعت ماکزیمم (V_{max}) را می توان از طریق اندازه گیری سرعت کاتالیز در غلظتهای مختلف سوبسترا به آسانی محاسبه کرد. برای اکثر آنزیمها مقدار K_m بین 10^{-7} و 10^{-1} مولار قرار دارد. مقدار K_m برای یک آنزیم به نوع سوبسترا و شرایط محیطی از قبیل pH، دما و قدرت یونی بستگی دارد. K_m غلظتی از سوبسترا است که در آن نصف جایگاههای فعال آنزیم پر شده اند. براساس مشاهدات تجربی برای بسیاری از آنزیمها، K_m ، تقریباً مشابه غلظت سوبسترا در شرایط *in vivo* می باشد (۱۶).

سرعت ماکزیمم (V_{max}) یک آنزیم عدد بازگردش^۱ آن آنزیم را نشان می دهد. این عدد معرف تعداد مولکولهای سوبسترای است که توسط یک مولکول آنزیم، در واحد زمان و در حالت اشباع آنزیم از سوبسترا به محصول تبدیل شده اند (۱۶).

۱-۲-۲) مهار کننده های آنزیمی:

فعالیت بسیاری از آنزیمها را می توان بوسیله یونها و مولکولهای کوچک اختصاصی مهار نمود. بدین معنی که مهار فعالیت آنزیمی به عنوان یک مکانیسم کنترلی مهم در سیستمهای زیستی عمل می کند. بسیاری از داروها و ترکیبات سمی با مهار نمودن آنزیمها عمل می کنند. مهار آنزیمها توسط ترکیبات شیمیایی ویژه راهی مناسب جهت شناخت مکانیسم عمل آنزیمهاست (۱۶).

^۱ Turn Over Number