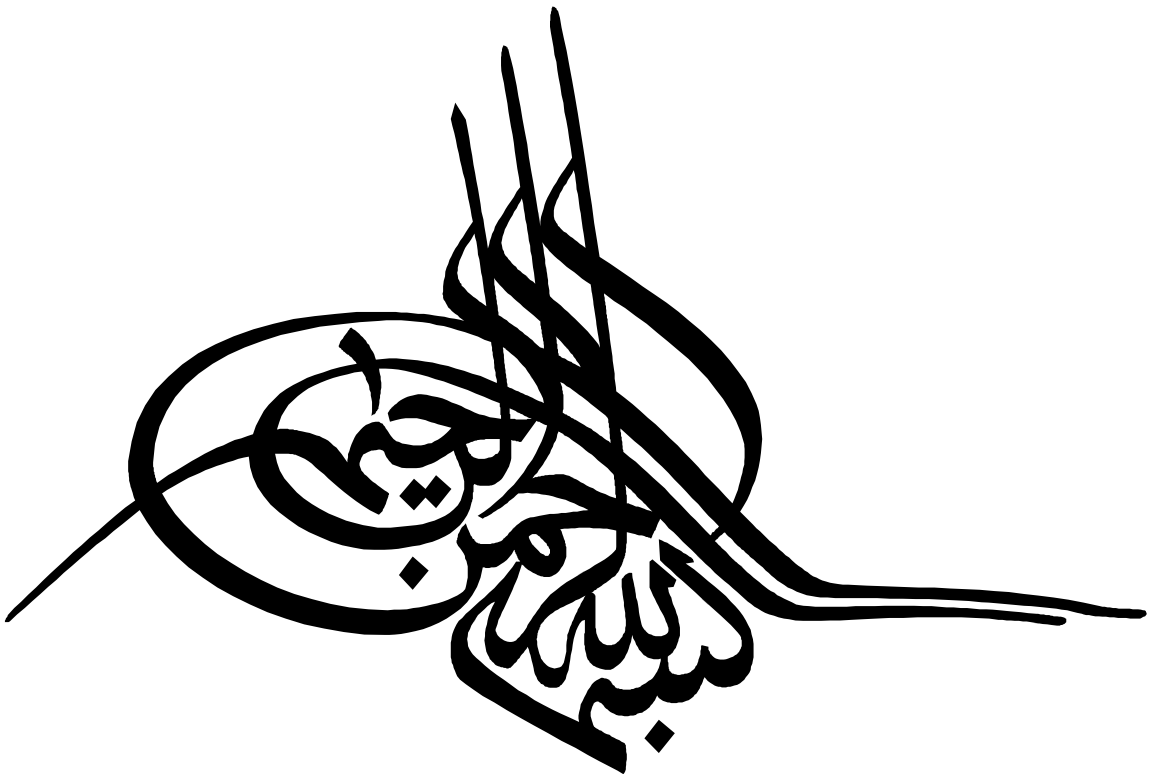

بسم الله الرحمن الرحيم

چکیده

آلکالین فسفاتاز دسته ای از آنزیم های هیدرولاز است که قادر است گروه فسفات را از سوبسترا جدا کند.این آنزیم در بافتهای مختلف دارای ایزوآنزیم های مختلفی است.سنجشآنزیم میتواند کمک به تشخیص برخی از بیماریها به خصوص بیماری کبدی نماید.

ترامادول یک دارو با اثرات تسکینی قوی است که بر روی دریافت کننده های گابا، سروتونین وآدرنالین سیستم عصبی مرکزی موثر است. در بزرگسالان ترامادول برای تسکین دردهای شدید به کار می رود و امروزه به طور گسترده استفاده می شود.

در این تحقیق برای اولین بار تاثیر داروی ترامادول بر روی آنزیم آلکالین فسفاتاز بررسی گردید.

نتایج ما نشان داد داروی ترامادول سبب مهار فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز می‌شود. رسم منحنی عکس سرعت علیه غلظت نشان داد که در حضور غلظتهای متفاوتی از ترامادول مهار کنندگی از نوع غیر رقابتی می باشد. در حالیکه در حضور ترامادول Km ثابت ولی سرعت ماکزیمم تغییر کرد که مهار کنندگی از نوع غیر رقابتی را مشخص کرد. مقدارKi ترامادول با رسم منحنی دیکسون، در حدود $0.19mM$ مشخص شد و میزان IC_{50} دارو در حدود $0.09mM$ محاسبه گردید.

تغییر کانفورماسیون آن در حضور و غیاب ترامادول توسط دستگاه فلورسانس بررسی گردید. نتایج به دست آمده از دستگاه فلورسانس دلالت بر آن دارد که پس از اتصال ترامادول تغییر ساختاری ناشی از جابجا شدن باقی‌مانده‌های تیروزین وتریپتوفان به چشم خورد به طوریکه هیپو کرومیسیتی در گراف بدست آمده پس از اتصال ترامادول به آنزیم دیده شد.

فهرست

عنوان **صفحه**

فصل اول : مقدمه..... ۱

فصل دوم: مهار کننده ها..... ۷

۲-۱- مقدمه ای برمهارکننده ها..... ۸

۲-۲- مهار کننده ی رقابتی..... ۸

۲-۳- مهار کننده غیر رقابتی..... ۱۲

۲-٤- مهار کننده نا رقابتی..... ۱۵

۲-۵- مهار کننده های آنزیمی به عنوان دارو..... ۱۷

۲-٦-مهار کننده های غیر قابل برگشت..... ۱۷

فصل سوم: آنزیم آلکالین فسفاتاز..... ۱۹

۳-۱- مقدمه ای برآنزیم آلکالین فسفاتاز..... ۲۰

۳-۲- ساختار فضایی آنزیم آلکالین فسفاتاز..... ۲۱

۳-۳- تعیین تواای آمینواسیدی آنزیم آلکالین فسفاتاز..... ۲۲

۳-٤- تعیین توالی آنزیم آلکالین فسفاتاز..... ۲۲

۳-۵- اثرات برخی مهار کننده ها بر روی آنزیم آلکالین فسفاتاز..... ۲٤

۳-٦- فیزیولوژی آنزیم آلکالین فسفاتاز..... ۲٤

۳-۷-pH بهینه آنزیم الکالین فسفاتاز..... ۲۵

۳-۸- فعال کننده های آنزیم آلکالین فسفاتاز..... ۲٦

۳-۹- دمای بهینه آنزیم آلکالین فسفاتاز..... ۲۷

۳-۱۰- استفاده بالینی آنزیم آلکالین فسفاتاز..... ۲۸

۳-۱۱- تست ایزوانزیم آلکالین فسفاتاز..... ۲۸

۱-۳-۱۱- تست چگونه انجام می شود ؟..... ۲۹
۲-۳-۱۱- فرد چطور برای تست آماده می شود؟..... ۲۹
۳-۳-۱۱- چرا تست انجام می گیرد؟..... ۲۹
٤-۳-۱۱- سطوح افزایش داده شده آلکالین فسفاتاز..... ۳۰
٥-۳-۱۱-سطوح کاهش داده شده آلکالین فسفاتاز..... ۳۰
۳-۱۲-آلکالین فسفاتاز لوکوسیتها..... ۳۱
فصل چهارم: داروی ترامادول..... ۳۲
٤-۱- مقدمه ای بر داروی ترامادول..... ۳۳
٤-۲- نحوه ی مصرف دارو بر حسب اندیکاسیون..... ۳٥
٤-۳- اشکال دارویی..... ۳٥
٤-٤- تداخلات دارویی ترامادول..... ۳٥
٤-٥- واکنش های ناخواسته وعوارض جانی دارو..... ۳٦
١-٤-٥- اثرات جانبی کم اهمیت‌تر..... ۳۷
٤-٦- اطلاعاتی که در مورد ترامادول باید بدانیم..... ۳۷
فصل پنجم: دستگاه فلورسانس..... ۳۹
٥-۱- مقدمه ای برطیف سنجی فلورسانس..... ٤۰
٥-۳- تفسیر طیف فلورسانس پروتئینها..... ٤۲
فصل ششم: مواد وروشها..... ٤٦
٦-۱- مواد..... ٤۷
٦-۲- دستگاه ها..... ٤۷
٦-۲-۱- حمام آب گرم..... ٤۷
٦-۲-۲- اسپکتر وفتومتر..... ٤۷
٦-۲-٤- دستگاه سانتریفیوژ..... ٤۷

٦-٢-٥- ترازو ٤٨
٦-٢-٦- ستون کروماتوگرافی ٤٨
٦-٢-٧- الکترو فورز ٤٨
٦-٢-٨- دستگاه فلورسانس ٤٨
٦-٣- روشها ٤٨
٦-٣-١- روش تهیه بافر ٤٨
٦-٣-٢- روش تهیه سوبسترا (پارانیتروفنیل فسفات) ٤٨
٦-٣-٣- آنزیم آلکالین فسفاتاز ٤٨
٦-٣-٤-روش تهیه مهار کننده ٤٩
٦-٣-٥- تعیین میزان پروتئین ٤٩
٦-٣-٦- روش اندازه گیری فعالیت آنزیم ٥٠
٦-٣-٧- روش خالص سازی آنزیم آلکالین فسفاتاز ٥٠
٦-٣-٨- روش الکتروفورز SDS-PAGE ٥١
٦-٣-9- بررسی ساختار آنزیم به وسیله ی دستگاه فلورسانس ٥٢
فصل هفتم : نتایج ٥٣
٧-١- مطالعات کینتیکی ٥٤
٧-١-١-رسم نمودار لینویور-برک ٥٦
٧-١-٢- تعیین مقدارKiتوسط رسم منحنی دیکسون ٥٩
٧-٢- نتایج خالص سازی آنزیم آلکالین فسفاتاز ٦٠
٧-٣- تعیین وزن مولکولی آلکالین فسفاتاز ٦٤
٧-٤- مطالعات تغییرات ساختمانی ٦٤
٧-٤-١- اطلاعات به دست آمده از دستگاه فلورسانس ٦٥
٧-٤-٢- برانگیختگی در طول موج ٢٧٥نانومتر ٦٥

۷-٤-۳- برانگیختگی در طول موج۲۸۵نانومتر..... ٦٨
۷-۵- بحث ونتیجه گیری..... ۷۱

فهرست شکلها

عنوان صفحه

شکل ۲-۱- مدل مهار کننده ی رقابتی..... ۹

شکل ۲-۲- مدل مهار کننده غیر رقابتی..... ۱۲

شکل ۲-۳- اتصال طبیعی سوبسترا به انزیم-اتصال مهار کننده به انزیم-اتصال مهارکننده غیر رقابتی به آنزیم..... ۱٤

شکل ۳-۱- ساختار آلکالین فسفاتاز..... ۲۲

شکل ۳-۲- ژنALPL..... ۲٤

شکل ۳-۳- فعالیت نسبی آنزیم الکالین فسفاتاز تحت عملکردpH..... ۲۵

شکل ٤-۳- فعالیت نسبی آنزیم آلکالین فسفاتاز نسبت به دما..... ۲۷

شکل ۷-۱- شکل الکتروفورز نمونه آنزیمی خالص شده..... ٦۳

فهرست نمودارها :

عنوان **صفحه**

نمودار ۲-۱- نمودار معادله میکائیلیس – منتن مهارکننده رقابتی..... ۱۱

نمودار ۲-۲. نمودار لینویور- برک مهار کننده رقابتی..... ۱۱

نمودار ۲-۳- نمودار میکائیلیس – منتن مهار کننده غیر رقابتی..... ۱٤

نمودار ۲-٤- نمودار لنیویور- برک مهار کننده ی غیر رقابتی..... ۱٤

نمودار ۲-۵- نمودار میکائیلیس – منتن مهار کننده نارقابتی..... ۱٦

نمودار2-6- نمودار لینویور-برک مهار کننده نا رقابتی..... ۱٦

نمودار۷-۱- گراف ΔOD بر حسب زمان برای غلظت 4mm سوبسترا در غیاب ترامادول (شاهد) و در حضور $25\mu L$ از ترامادول ۵٤

نمودار۷-2- گراف ΔOD بر علیه زمان برای غلظت 4mm سوبسترا در غیاب ترامادول (شاهد) و در حضور $50\mu L$ از ترامادول..... ۵۵

نمودار۷-3- گراف ΔOD بر علیه زمان برای غلظت $4mm$ سوبسترا در غیاب ترامادول (شاهد) و در حضور $100\mu L$ از ترامادول..... ۵۵

نمودار۷-4- گراف ΔOD بر علیه زمان برای غلظت $4mm$ سوبسترا در غیاب ترامادول (شاهد) و در حضور $200\mu L$ از ترامادول..... ۵٦

نمودار۷-5- نمودار لینویور- برک.اثر مهاری ترامادول بر آنزیم آلکالین فسفاتاز..... ۵۷

نمودار۷-٦- تغییرات Vmaxبه غلظت ترامادول بر علیه مهار کننده[I] و تعیین مقدار IC50..... ۵۸

نمودار۷-۷- نمودار دیکسون برای غلظت هایی از سوبسترا..... ۵۹
نمودار۷-8- نمودار فعالیت آنزیمی فراکشن ها..... ٦١
نمودار۷-۹- نمودار تعیین وزن مولکولی آنزیم آلکالین فسفاتاز..... ٦٤
نمودار۷-۱۰- گرافهای به دست آمده از فلورسانس در طول موج ۲۷۵نانومتر به ترتیب سوبسترا و مهارکننده به آنزیم افزوده شده است..... ٦٦
نمودار۷-۱۱- گرافهای حاصل شده از دستگاه فلورسانس در طول موج ۲۷۵نانومتر به ترتیب مهار کننده و سوبسترا افزوده شده است..... ٦٧
نمودار۷-۱۲- گرافهای حاصل شده از دستگاه فلورسانس در طول موج ۲۸۰نانومتر به ترتیب سوبسترا و مهار کننده افزوده شده است..... ٦٨
نمودار۷-۱۳- گرافهای حاصل شده از دستگاه فلورسانس در طول موج ۲۸۰ نانومتر به ترتیب مهارکننده و سوبسترا افزوده شده است..... ۷۰

فصل اول:

مقدمه

مقدمه

آنزیم‌ها، پروتئینهای اختصاصی هستند که واکنشهای بیولوژیک را کاتالیز می‌کنند. هر واکنشی که در یک سلول اتفاق می‌افتد به عمل یک آنزیم نیاز دارد. زیرا بیشتر واکنشها در شرایط فیزیکی سلول (pH، دما و محیط یونی) رخ نمی‌دهند. یک کاتالیست، سرعت یک واکنش شیمیایی را افزایش می دهد و می‌تواند یک ترکیب آلی یا غیرآلی باشد. آنزیم‌ها کاتالیست‌های با کفایتی هستند: نه تنها سرعت تبدیل سوبسترا به محصول را افزایش می‌دهند، بلکه همچنین در حضور ساختارهای مشابه یک ساختار اختصاصی را شناسایی می‌کنند تا یک محصول منحصر به فرد را تولید کنند. شش گروه اصلی آنزیم‌ها وجود دارند که هر گروه یک واکنش شیمیایی متفاوت را کاتالیز می‌کند.

یک آنزیم سرعت تشکیل محصول را با کم کردن انرژی فعالسازی (energy of activation) افزایش می‌دهد. انرژی فعالسازی با بزرگی سد تبدیل سوبسترا به محصول ارتباط دارد. وقتی که آنزیم با سوبسترا واکنش می‌دهد، انرژی فعالسازی انجام می‌شود و سوبسترا را در یک حالتی پایدار می‌کند که اجازه تشکیل محصول را می‌دهد که به این حالت، حالت گذار (انتقال) (transition state) گفته می‌شود. هرچه حالت گذار پایدارتر باشد، انرژی کمتری برای تبدل سوبسترا به محصول مصرف می شود و واکنش سریعتر خواهد بود. هرچه حالت گذار پایدارتر باشد، انرژی کمتری برای تبدیل سوبسترا به محصول مصرف می‌شود و واکنش سریعتر خواهد بود . حالت گذار در طراحی داروها مفید است.[دکتر محمدی , رضا:۳٤۰-۲۷٤]

بسیاری از آنزیم‌هایی که واکنش انتقال گروه یا واکنشهای دیگر را کاتالیز می‌کنند. علاوه بر سوبسترای خود به مولکول آلی دیگر یا یون فلزی دیگر موسوم به کوآنزیم یا کوفاکتور نیاز دارند و

بدون آن غیرفعال می‌شوند. فعالیت بعضی از آنزیم‌ها فقط بستگی به ساختمان پروتئینی آنها دارد. در صورتی که بعضی دیگر برای فعال شدن به یک یا چند ترکیب غیرپروتئینی که کوفاکتور نامیده می شوند احتیاج دارند.

کوآنزیم‌ها، مجموعه توانایی‌های کاتالیتیک یک آنزیم را بسیار بیشتر از محدوده‌ای می‌کنند که صرفاً مربوط به گروههای عملکردی اسیدهای آمینه تشکیل دهنده کل آنزیم می‌باشد. کوآنزیم‌هایی که از طریق پیوند کووالانسی یا نیروهای غیرکووالانسی ارتباط محکمی با آنزیم برقرار می‌کنند، غالباً گروه پروستتیک نامیده می‌شوند. کوآنزیم‌ها را می‌توان به عنوان سوبسترای دوم در نظر گرفت.

آنزیم‌های فسفاتاز متالو آنزیم‌هایی هستند که به مقدار زیاد در باکتریها ،گیاهان و انسانها وجود دارند و استرهای فسفریک اسید را هیدرولیز می‌کنند.

خانواده‌ی فسفاتازها بزرگ است و آنزیم‌فسفاتازی که در این مورد بررسی شده است آلکالین فسفاتاز است که گروهی از فسفومونواسترازها است. آلکالین فسفاتاز (ارتوفسفریک مونو استرفسفوهیدرولاز، EC3.1.3.1) در آزمایشات ژنتیکی- بیوشیمیایی همراه با واسطه‌ی بتاگالاکتوزیداز کاربرد دارد. (Hessle, L.,etal (2002))

این آنزیم ۸ عدد ایزوآنزیم دارد که در سه گروه جای می‌گیرد:

۱- ایزوآنزیم روده‌ای

۲- ایزوآنزیم موجوددر جفت

۳- ایزوآنزیم کبدی، ریوی، استخوانی، طحالی و ایزو آنزیم غیرطبیعی یا ایزوآنزیم ریگان(Rigan) که در زمان جنینی تولید می‌شود و بعد از تولد افزایش آن در سرم می‌تواند حاکی از سرطان باشد.

این آنزیم به یون منیزیم به عنوان فعال کننده نیاز دارد و برخی یونهای دیگر از جمله یون منگنز و یون کبالت نیز آنزیم را فعال می‌کنند. آلکالین فسفاتاز در افراد دارای گروه خونی AB و B بیشتر از میزان آلکالین فسفاتاز در افراد دارای گروه خونی B و O می باشد که به دلیل مقدار متفاوت در ایزوآنزیم روده ای است.((Van Hoof,Vo.,et al(1992)

تکامل خصوصیات ثابت کینیتکی این آنزیم مشکلات خاص تکنیکی خود را دارد. ترکیبات مورد استفاده در فرایند ثابت سینتیکی عبارتند از:

(a) مقداری بافر به خصوص بافر تریس که به عنوان پذیرنده‌های فسفات مورد استفاده قرار می‌گیرد.

(b) آنزیم ، تحت شرایط انکوبه شدن با بافرهای خاص دارای فعالیت می باشد.

فعالیت آنزیمی حساس به قدرت یونی بالایی است. قدرت اتصال یونهای منزیم به آلکالین فسفاتاز کمتر از یونهای روی است.

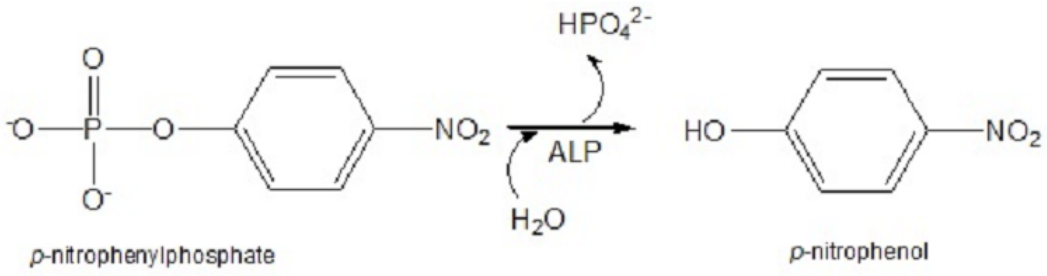
ثابت میکائیلیس اغلب خیلی پایین است,به خصوص وقتی که غلظت بزرگی از سوبسترا به عنوان قسمت مناسبی مورد استفاده قرار می‌گیرد.((Rosalkins,B.,etal (1984)

روشهای اندازه گیری:

چون این آنزیم دارای سوبسترای نسبتاً اختصاصی نمی‌باشد، برای اندازه‌گیری آن روشهای مختلفی ابداع شده است. اختلاف عمده بین این روشها در غلظت ، نوع سوبسترا و تامپون می باشد. در اکثریت این روشها از پارانیتروفنیل فسفات (PNPP) به عنوان سوبسترا استفاده می شود.

P-Nitro Phenyl Phosphate + H_2O→ Phosphate + Nitro Phenol

آلکالین فسفاتاز هیدرولیز گروه فسفات را به منظور تولید نیتروفنل–p کاتالیز می‌کند و عملکرد محصولات به طور اسپکتروسکوپی در طول موج 400-410 نانومتر که طول موج ماکزیمم (λ_{max}) برای نیتروفنل –p است، بازبینی می‌شود. . (Levinthal, C.,et al (1965))



شکل:عملکرد آنزیم آلکالین فسفاتاز

افزایش فعالیت آلکالین فسفاتاز:

ایزوآنزیم‌استخوانی در کودکان تا سه برابر نرمال افزایش دارد که علت آن فعالیت شدید استئوبلاستهای استخوانی است.

این سلولها در بافت استخوانی ، آلکالین فسفاتاز ترشح می‌کنند. از جمله تکنیکهایی که فعالیت آلکالین فسفاتاز اضافی را در استخوان نشان می‌دهند، الکتروفورز و کروماتوگرافی HPLC می باشد.ایزوآنزیم‌روده‌ای در بافت استخوانی افزایش می‌یابد بنابراین جهت انجام آزمایش آلکالین فسفاتاز فرد باید ناشتا باشد.((Wilson, I.B., Dayan, J,. (1965)

ایزو آنزیم جفتی در زنان حامله، در سه ماهه‌ی دوم و سوم تا دو برابر نرمال افزایش می یابد. در کلستاز (cholestasis) ، انسداد مجاری صفراوی، یرقانهای انسدادی، کیست و آبسه‌ی کبدی فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز افزایش می‌یابد. در تمام موارد فوق به علت انسداد مجاری صفراوی، صفرا همانند یک دترجنت روی غشای سلولهای کبدی اثر گذاشته و موجب آزاد شدن آلکالین فسفاتاز می‌گردد. در حالی که در ضایعات خود سلولهای کبدی که SGOT و SGPT افزایش دارند، آلکالن فسفاتاز افزایش نمی‌یابد.

(Mayne,PD.,et al(1986))

کاهش فعالیت آلکالین فسفاتاز:

فعالیت آلکالین فسفاتاز درهیپوفسفاتازی که یک ناهنجاری ارثی متابولیسم استخوان می باشد، کاهش می‌یابد. کاهش فعالیت آلکالین فسفاتاز با کمبود روی نیز اتفاق می‌افتد. تزریق

خون و احیای قلبی- ریوی نیز اغلب موجب کاهش میزان آلکالین فسفاتاز می‌شوند. این اثر به واسطه شلاته کردن کاتیونهای ضروری توسط سیترات می‌باشد.

(Kozlenkov,A.,et al (2002))

فصل دوم:

مهارکننده ها

۲–۱–مقدمه‌ای بر مهار کننده‌ها

مهار کننده‌های آنزیمی عوامل مولکولی هستند که با کاتالیز تداخل نموده و واکنشهای آنزیمی را آهسته و متوقف می‌سازند. مهارکننده‌ها از جمله مهمترین عوامل فارماکولوژیک شناخته شده می باشند.

برای مثال آسپیرین (استیل سالیسیلات)، آنزیم کنترل کننده‌ی اولین مرحله سنتز پروستاگلاندین‌ها را مهار می‌نماید که در بسیاری از فرایندها از جمله ایجاد درد، مؤثر هستند. مطالعه‌ی مهار کننده‌های آنزیمی همچنین اطلاعات مهمی را در مورد مکانیسم‌های آنزیمی فراهم نموده و به تعیین بعضی مسیرهای متابولیکی کمک نموده است. دوکلاس بزرگ مهار کننده‌ها، شامل قابل برگشت و غیرقابل برگشت می‌باشد. مهار کننده‌های قابل برگشت می‌تواند رقابتی، نارقابتی و غیررقابتی باشد.

۲–۲– مهار کننده‌ی رقابتی (Competitive inhibition)

مهار کننده‌ی رقابتی، با سوبسترا برای جایگاه فعال آنزیم رقابت می‌نماید بدین صورت که با اشغال جایگاه فعال آنزیم توسط مهار کننده، از اتصال سوبسترا به آنزیم ممانعت به عمل خواهد آمد.

$$\begin{array}{ccccc} E + S & \longleftrightarrow & ES & \longrightarrow & E + P \\ + & & & & \\ I & & & & \\ \updownarrow K_i & & & & \\ EI & & & & \end{array} \qquad (۱–۲)$$

در اغلب موارد، مهار کننده‌های رقابتی ترکیباتی هستند که مشابه سوبسترا بوده و با آنزیم ترکیب شده تا ایجاد کمپلکس EI بنمایند، ولی این اتصال منتهی به کاتالیز نمی‌گردد. حتی ترکیبات زودگذر مهار کننده‌های رقابتی، اثرات منفی بر روی کارایی آنزیم دارند. با در نظر گرفتن هندسه‌ی مولکولی

مهار کننده‌هایی که مشابه سوبسترا هستند به نتایجی می‌رسیم که کدام قسمتهای طبیعی به آنزیم اتصال می‌یابند. چنانچه V_o سرعت واکنش آنزیمی در غیاب مهار کننده و Vi سرعت واکنش آنزیمی در حضور مهار کننده باشد، فعالیت نسبی به صورت

$$\alpha = \frac{V_1}{V_o} \qquad (۲-۲)$$

و یا:

$$\alpha = \frac{V_1}{V_2} \times 100 \qquad (۳-۲)$$

بیان می‌شود به علاوه کسر مهار شده یا i به صورت $i = 1 - \alpha = 1 - \frac{V_1}{V_o}$ تعریف می‌شود و درجه مهار کنندگی برحسب درصد به صورت $i\%100(1-\alpha)$ تعریف می‌گردد.

$$K+ = \frac{[E][I]}{[EI]} \qquad (٤-۲)$$

شکل ۲-۱-مدل مهار کننده‌ی رقابتی. مهار کننده رقابتی، برای جایگاه فعال آنزیم با سوبسترا رقابت می‌کند.

در حضور یک مهار کننده‌ی رقابتی، معادله میکائیلیس–منتن بدین شکل تبدیل می‌شود:

$$\frac{1}{V_o} = \frac{V_{max}[S]}{K_m(1+\frac{[Z]}{Ki})+[S]} \qquad (۵-۲)$$

و معادله لینویور–برک برای مهار کننده رقابتی:

$$\frac{1}{V_o} = \frac{K_m}{V_{max}}(1+\frac{[I]}{Ki})\frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}} \qquad (۶-۲)$$

و درجه مهار کنندگی برای مهار رقابتی:

$$\alpha = \frac{K_m+[S]}{K_m(1+\frac{[Z]}{Ki})+[S]} \qquad (۷-۲)$$

و:

$$i = 1-\alpha = \frac{[I]}{Ki(1+\frac{[S]}{K_m})+[I]} \qquad (۸-۲)$$

مهار کننده رقابتی ، مقدار ظاهری K_m (K'_m) را برای سوبسترا افزایش می‌دهد.

$$K'_m = K_m(1+\frac{[Z]}{Ki}) \qquad (۹-۲)$$

در مورد مهار رقابتی ساده، نقطه تقاطع نمودار با محور xها برابر است با:

$$X = \frac{1}{K_m(1+\frac{[Z]}{Ki})} \qquad (۱۰-۲)$$

بسیاری از داروهای مورد استفاده در طب بالینی، به صورت مهار کننده‌های رقابتی آنزیم‌های مهمی در سلولهای میکروبی و جانوری عمل می‌کنند.