بررسی فعالیت آنزیم کربنیک انهیدراز در حضور سدیم اگزالات و اتیلن دی آمین

سید یونس موسوی[۱]، آزاده حکمت[۱*]، مهدی علیجانیان‌زاده[۲]

۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران

۲. گروه بیوساینس و بیوتکنولوژی، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۵/۱۹)

چکیده

زمینه و هدف: آنزیم کربنیک انهیدراز متالوآنزیم حاوی یون روی (Zn^{+2}) است که هیدراسیون برگشت پذیر دی اکسید کربن را به یون‌های بی کربنات و هیدروژن کاتالیز می‌کند. عملکرد این آنزیم در انجام بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک بدن مانند تنفس، تعادل اسید-باز، ترشح الکترولیت‌ها، کلسی فیکاسیون، پیام رسانی سیستم عصبی و بیوسنتز لیپیدها نقش مهمی ایفا می‌کند. در این مطالعه نقش مهاری سدیم اگزالات و اتیلن دی آمین بر آنزیم کربنیک انهیدراز انسانی و الگوی مهاری آن بررسی شد.

روش بررسی: چهار غلظت متفاوت از اتیلن دی آمین و سدیم اگزالات: ۲۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار انتخاب گردید و فعالیت آنزیم در عدم حضور و حضور این ترکیبات بررسی گردید. به منظور تعیین دقیق پارامترهای سنیتیک کربنیک انهیدراز معادله جفت معکوس لاینویور-برگ استفاده گردید. همچنین میزان IC_{50} مهارکننده‌ها بدست آمد.

نتایج: نمودارهای جفت معکوس لاینویور-برگ نشان داد دو ترکیب فوق نقش مهاری بر فعالیت آنزیم کربنیک انهیدراز دارند و نوع مهار برای اتیلن دی آمین و سدیم اگزالات به ترتیب به صورت رقابتی و ضد رقابتی است. مقادیر K_m، V_{max}، IC_{50} و K_i نشان داد سدیم اگزالات اثر مهاری قوی‌تری نسبت به اتیلن دی آمین دارد.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج بدست آمده اتیلن دی آمین و سدیم اگزالات موجب مهار آنزیم کربنیک انهیدراز می‌شوند. همچنین سدیم اگزالات اثر مهارکنندگی قوی‌تر نسبت به اتیلن دی آمین دارد. بنابراین باید در میزان مصرف آنها بخصوص در صنعت دقت لازم به عمل آید. زیرا اختلال در عملکرد آنزیم کربنیک انهیدراز منجر به اختلال در عملکرد فرآیندهای فیزیولوژیک و بروز برخی بیماری‌ها گردد.

کلیدواژگان

اتیلن دی آمین، آنزیم کربنیک انهیدراز، جفت معکوس لاینویور-برگ، سدیم اگزالات.

* نویسنده مسئول، رایانامه: hekmat@ ut.ac.ir

مقدمه

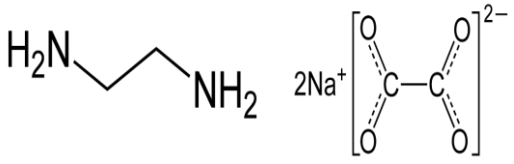
آنزیم کربنیک انهیدراز II انسانی (HCA II, EC 4.2.1.1) متالو آنزیمی است که هیدراسیون برگشت پذیری دی اکسید کربن را به یون‌های بی کربنات و هیدروژن کاتالیز می‌کند. عملکرد این آنزیم در انجام بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک بدن مانند تنفس، تعادل اسید-باز، ترشح الکترولیت‌ها، کلسی فیکاسیون (جمع شدن کلسیم در بافت‌های بدن به ویژه استخوان)، پیام رسانی سیستم عصبی و بیوسنتز لیپیدها نقش مهمی ایفا می‌کند. اختلال در عملکرد این آنزیم می‌تواند در ایجاد برخی بیماری‌ها مانند سرطان، گلوکوما، صرع و بیماری‌های مرتبط با حافظه نقش داشته باشد (۱). کربنیک انهیدرازها (کربنات هیدرولیازها) (CA) از متالوآنزیم‌های حاوی یون روی (Zn^{+2}) هستند که در تمامی پستانداران، گیاهان، جلبک‌ها و در گونه وسیعی از پروکاریوت‌ها (یوباکترها و آرکئوباکترها) وجود دارند (۱-۴). تاکنون کربنیک انهیدراز در قارچ‌ها کشف نشده است (۱, ۲). این آنزیم یکی از ساده‌ترین و در عین حال مهم‌ترین واکنش‌های سیستم زیستی را که آب‌دهی برگشت پذیر دی اکسید کربن به بی کربنات و پروتون است، کاتالیز می‌کند (۱). چنین فعالیت آنزیمی ضروری و مهم است، زیرا آب‌دهی دی اکسید کربن و آب گرفتگی بی کربنات اغلب با واکنش‌های بسیار سریع همچون فرآیندهای انتقالی (به عنوان نمونه، بی کربنات در خون باید خیلی سریع به شکل دی اکسید کربن دهیدراته شود و این دی اکسیدکربن سریع به ریه‌ها جهت بازدم منتقل می‌شود) همراه هستند (۲). این آنزیم در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک از جمله تولید مایع زلالیه، تولید مایع مغزی- نخاعی و انجام برخی از واکنش‌های بیوساختی (شامل مراحل مهمی از تولید ادرار، گلوکز نئوژنز و لیپوژنز) نقش بسیار اساسی ایفا می‌کند (۴-۶).

کربنیک انهیدراز انسانی (HCA) به صورت همزمان اما مستقل توسط ملدروم و روتون (۷) و همچنین توسط استادی و اوبرین (۸) در سال ۱۹۳۳ کشف شد. این آنزیم، در نتیجه تحقیق برای یافتن یک عامل موثر در کاتالیتیک انتقال سریع بی‌کربنات از اریتروسیت به مویرگ‌های ششی که از نظر تئوری وجود آن جهت الزامی به نظر می‌رسید، کشف و تعیین ویژگی شد. ملدروم و روتون کربونیک انهیدراز اریتروسیت را با درجه بالایی تخلیص کردند و تخلیص کامل آنزیم از اریتروسیت‌های گاوی در اواخر دهه ۱۹۳۰ انجام شد (۹).

اگزالات (IUPAC: ethanedioate) ترکیب شیمیایی دو آنیونی با فرمول $(COO)_2^{2-}$ می‌باشد و اکثرا با نام مشتقات نمک آن مثل سدیم اگزالات (شکل ۱) یا دی متیل اگزالات شناخته می‌شود. بسیاری از یون‌های فلزی با اگزالات تشکیل رسوب‌های نامحلول می‌دهند (۱۰). مثال بارز آن اگزالات کلسیم است که ترکیب اصلی سنگ کلیه را تشکیل می‌دهد. در طبیعت اگزالات در بسیاری از گیاهان، که در آن اکسیداسیون ناقص از سنتزکربوهیدرات رخ می‌دهد، وجود دارد. گیاهان غنی از اگزالات شامل سلمک، سرول و چند گونه اگزالیس (شبدر زینتی) می باشند. ریشه و برگ ریواس و گندم سیاه سرشار از اسید اگزالیک هستند. دیگر گیاهان خوراکی که حاوی غلظت قابل توجهی از اگزالات هستند به ترتیب نزولی عبارتند از فلفل سیاه، جعفری، دانه خشخاش، گل تاج خروس، اسفناج، چغندر، انواع توت‌ها و حبوبات. برگ‌های گیاه چای (چای سیاه و سبز) دارای بیشترین غلظت اسید اگزالیک نسبت به دیگر گیاهان می‌باشند. با این حال، چای سبز یا سیاه در آب گرم (دم کردن چای) تنها حاوی مقدار کم تا متوسط از اسید اگزالات هستند (۱۱, ۱۲).

اتیلن آمین‌ها در تولید بسیاری از ترکیبات صنعتی

مانند عوامل کلاته کننده، ترکیبات کشاورزی (مخصوصا قارچکش‌ها)، افزودنی‌های بنزین، مواد شیمیایی مورد استفاده در صنعت نفت، رزین‌های کاغذ مرطوب، سورفکتانت‌ها و نرم‌کننده‌های لباس مورد استفاده قرار می‌گیرند. اتیلن دی آمین ترکیب آلی با فرمول شیمیایی $C_2H_4(NH_2)_2$ می‌باشد (شکل ۱). این مایع بی رنگ که بویی شبیه آمونیاک دارد، آمینی به شدت قلیایی است. این ترکیب دارای وزن مولکولی ۶۰,۱ گرم بر مول، نقطه ذوب ۸ درجه سانتی گراد و نقطه جوش ۱۱۶ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. اتیلن دی آمین حلال در آب و خیلی مختصر حلال در اتر است (۱۳). اتیلن دی آمین همچنین به عنوان افزودنی در برخی داروها به کار می‌رود (۱۴). مواردی نیز از ایجاد آلرژی‌های پوستی در اثر استعمال اتیلن دی آمین مشاهده شده است (۱۴).



اتیلن دی آمین　　سدیم اگزالات

شکل ۱- ساختار اتیلن آمین و سدیم اگزالات

بسیاری از بیماری‌ها در ارتباط با ایزوزیم‌های کربنیک انهیدراز هستند. تعدادی از این بیماری‌ها به علت نقص و تعدادی دیگر به علت بیان بالای بعضی از ایزوزیم‌های کربنیک انهیدراز در بافت‌های مختلف بدن ایجاد می‌شود. با این حال تاکنون فقط یک نوع سندروم نقص CA II در افراد خاصی شناسایی شده است که منجر به استئوپروز، اسیدوز در لوله‌های کلیه و کلسی فیکاسیون مغزی می‌شود. نقص در CA II منجر به آسیب رساندن به روند تولید یون H^+ می‌شود و در نتیجه منجر به پیشرفت بیماری استئوپروز می‌گردد (۱۵). ایجاد مایع زلالیه وابسته به تشکیل کاتالیتیک بی کربنات از CO_2 است. حرکت مایع از استرومای مژگانی به حفره عقبی چشم مستلزم حرکت یون سدیم و بی کربنات از غشاء اپی تلیوم مژکی است، به عبارت دیگر بین بی کربنات تولید شده با یون‌های سدیم و حرکت مایع برای تولید مایع زلالیه رابطه مستقیم برقرار است. در چشم طبیعی و سالم، فشار داخل چشم افزایش می‌یابد. دو ایزوزیم II CA و CA V در چشم سالم وجود دارند و اختلال در عملکرد این دو ایزوزیم منجر به افزایش فشار چشم و در نتیجه ایجاد بیماری گلوکوما می‌گردد (۱۵). بنابراین با توجه نقش مهم آنزیم کربنیک در بدن، هدف از این مطالعه بررسی تأثیر مهاری اتیلن دی آمین و سدیم اگزالات بر فعالیت آنزیم کربنیک انهیدراز II می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد

آنزیم کربنیک انهیداز II انسانی در حجم ۱۰۰ میلی‌گرم، اتیلن دی آمین با درجه خلوص ۱۰۰٪ و چگالی ۰,۹ kg/m^3 و دی سدیم اگزالات از شرکت سیگما خریداری شد. ۴-نیترو فنیل استات و تریس سولفات از شرکت مرک خریداری گردید. کلیه آزمایش‌ها با استفاده از بافر تریس سولفات در ۷,۷۵ pH انجام شد.

سنجش فعالیت آنزیم

جهت بررسی فعالیت آنزیم کربنیک انهیدراز از روش پوکر و استون (۱۶) استفاده گردید. در ابتدا ۳/۵ میلی‌گرم از آنزیم وزن گردید و با بافر تریس سولفات به حجم ۱ میلی‌لیتر رسید (۱۲,۸ میلی‌مولار). سپس ۰,۹ میلی‌گرم از سوبسترا (۴-نیترو فنیل استات) در استونیتریل حل گردید و به حجم ۱ میلی‌لیتر رسید (۵۲ میلی‌مولار). سپس آنزیم به همراه سوبسترا در

سل یا کووت (ظرف اندازه‌گیری مواد در دستگاه اسپکتروسکوپی) ۱ میلی‌لیتری ریخته شد و پس از ۱۰ ثانیه و خوب هم زدن، سرعت افزایش غلظت محصول پارانیتروفنولات با اندازه‌گیری جذب در طول موج ۴۰۰ نانومتر به عنوان تابعی از زمان و به مدت ۱۲۰ ثانیه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد ثبت گردید. غلظت نهایی آنزیم ۰،۰۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر بود. برای محاسبه فعالیت از رابطه ۱ استفاده شد:

$$\text{Enzyme Activity} = \frac{\frac{dA}{dt}}{\varepsilon L} \qquad (۱)$$

در این رابطه $\frac{dA}{dt}$ سرعت تغییر جذب نوری ایجاد شده است که به وسیله اسپکتروفتومتر در حالت کینتیکی، قابل اندازه‌گیری است. طول مسیر نور L و برابر با ۱ سانتیمتر و ε ضریب خاموشی است که براساس گزارش موجود مراجع برابر با $M^{-1}cm^{-1}$ ۵۴۰۰۰ است. فعالیت آنزیم بر حسب واحد بوده و هر واحد فعالیت آنزیمی برابر با تعداد میکرومول‌های محصول ایجاد شده در دقیقه (µmol/min) تعریف گردید.

بررسی فعالیت آنزیم کربنیک انهیدراز در حضور اتیلن دی آمین و سدیم اگزالات

چهار غلظت متفاوت از اتیلن دی آمین و سدیم اگزالات: ۲۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار انتخاب گردید و فعالیت آنزیم در تمام این غلظت‌ها طبق روشی که در بخش مواد و روش‌ها توضیح داده شد، بررسی گردید. به منظور تعیین دقیق پارامترهای سنیتیک کربنیک انهیدراز معادله جفت معکوس لاینویور-برگ (رابطه ۲) استفاده گردید.

$$\frac{1}{V} = \frac{k_m}{V_{max}}[S] + \frac{1}{V_{max}} \qquad (۲)$$

جهت محاسبه درصد مهارکنندگی و درصد فعالیت آنزیم از رابطه ۳ و ۴ استفاده گردید.

(۳) درصد مهارکنندگی= (سرعت در حضور مهارکننده – سرعت در غیاب مهارکننده)/ سرعت در غیاب مهارکننده (۴)

سپس با رسم نمودار غلظت‌های مختلف مهارکننده و محاسبه درصد فعالیت، میزان IC_{50} مهارکننده‌ها بدست آمد.

نتایج

شکل ۲ نشان دهنده منحنی جفت معکوس لاینویور-برگ آنزیم کربنیک انهیدراز در عدم حضور و حضور اتیلن دی آمین است. با توجه به نتایج بدست آمده مهار اتیلن دی آمین از نوع رقابتی می‌باشد، زیرا در نمودار لاینویور-برگ، V_{max} تغییر نیافت و عرض از مبدا نمودارها در حضور و عدم حضور مهارکننده ثابت ماند. همچنین مقدار K_m با افزایش غلظت مهارکننده کاهش یافت (جدول ۱).

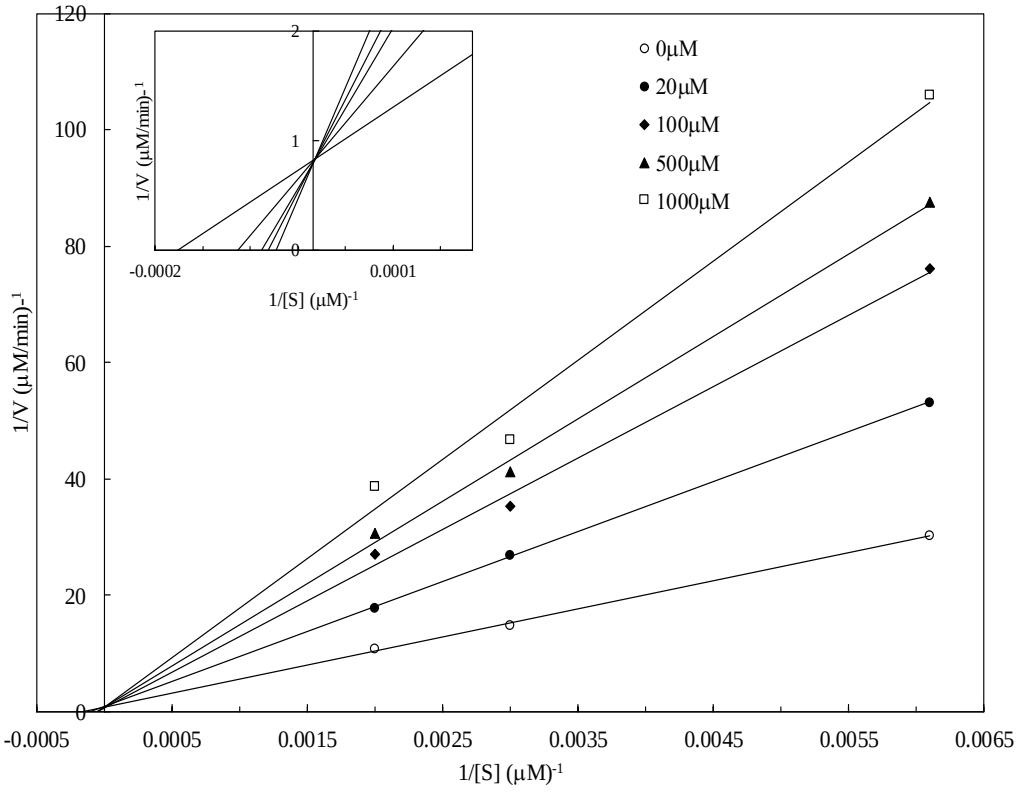
شکل ۳ نشان دهنده منحنی جفت معکوس لاینویوربرک آنزیم کربنیک انهیدراز در عدم حضور و حضور سدیم اگزالات است. با توجه به نتایج بدست آمده مهار سدیم اگزالات از نوع ضد رقابتی می‌باشد، زیرا در غلظت افزایش یابنده از مهارکننده، شیب نمودارها ثابت، عرض از مبدا افزایش یافته، طول از مبدا منفی‌تر شد و همه نمودارها با هم موازی شد. به عبارت دیگر مقدار V_{max} و K_m با افزایش غلظت مهارکننده کاهش یافت (جدول ۱).

در مرحله بعد جهت یافتن ثابت‌های مهار (K_i)، منحنی‌های ثانویه معکوس برای هر دو مهارکننده رسم گردید (شکل ۴ و ۵). بر این اساس مقادیر K_i برای هر دو مهارکننده بدست آمد که در جدول ۱ بیان شده است. براساس مکانیسم مهارکنندگی آنزیم هرچه مقدار K_i کمتر باشد قدرت مهارکنندگی بیشتر است (۱۷). بنابراین سدیم اگزالات قدرت مهارکنندگی بیشتری نسبت به اتیلن دی آمین دارد.

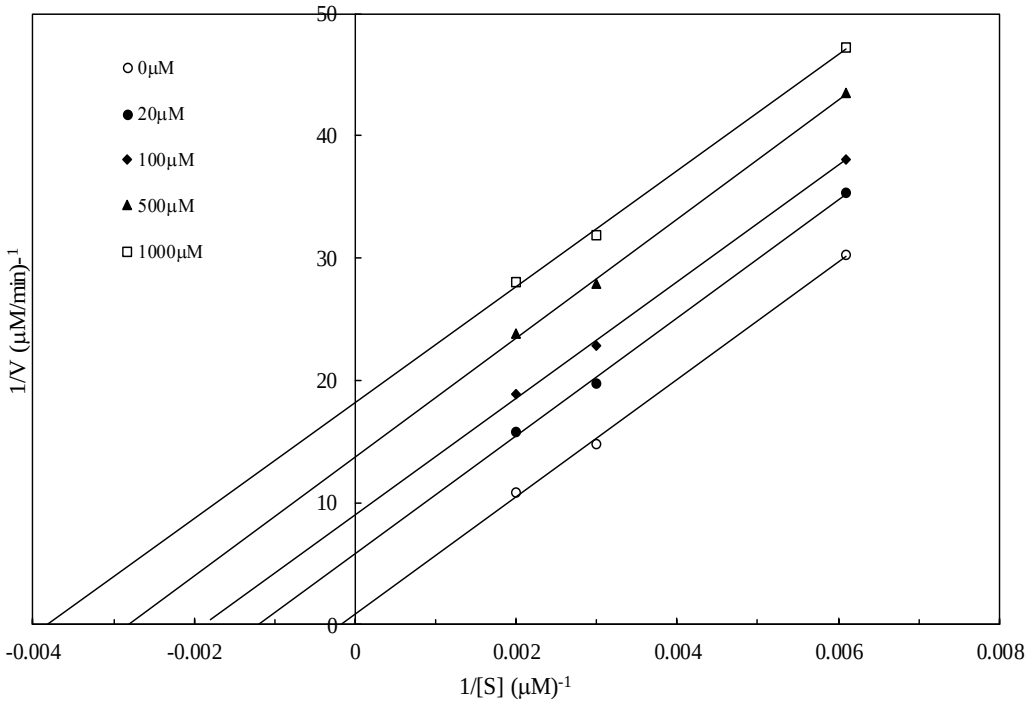
در مرحله بعد منحنی درصد فعالیت بر حسب غلظت‌های مختلف مهارکننده‌ها رسم گردید (شکل ۶ و۷) و مقادیر IC_{50} مهارکننده‌ها بدست آمد (جدول ۱). همانگونه که مشاهده می‌شود میزان IC_{50} برای سدیم اگزالات ۷۰ µM و برای اتیلن دی آمین ۱۰۰ µM است، که خود نشان دهنده قوی‌تر بودن اثر مهارکنندگی سدیم اگزالات بر آنزیم کربنیک انهیدراز است.

جدول ۱- مقایسه ثابت‌های سنتیکی آنزیم کربنیک انهیدراز در حضور اتیلن دی آمین و سدیم اگزالات

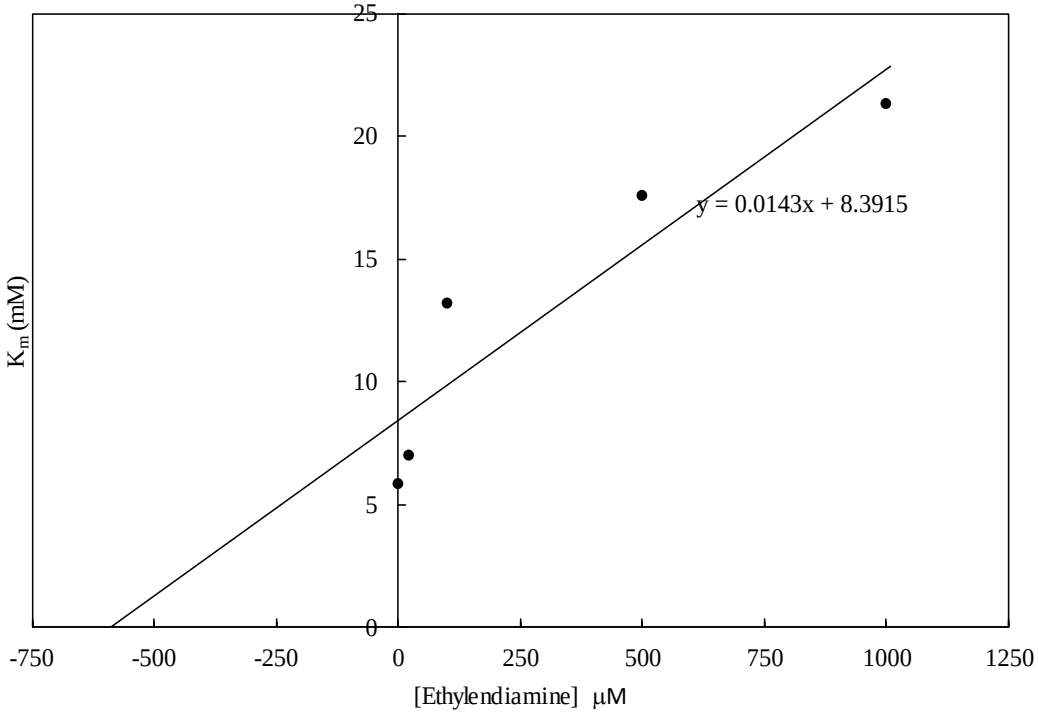
	نوع مهار	IC_{50} (µM)	K_i (µM)	V_{max} (µM.min^{-1})	K_m (mM)
آنزیم در عدم حضور مهارکننده				۱,۲۰	۵,۷۹
آنزیم در حضور اتیلن دی آمین	رقابتی	۱۰۰	۰,۵۸	۱,۲۰	۲۱,۳۳ (در غلظت ۱۰۰۰ µM)
آنزیم در حضور سدیم اگزالات	ضدرقابتی	۷۰	۰,۳۳	۰,۰۵۵	۰,۲۶ (در غلظت ۱۰۰۰ µM)



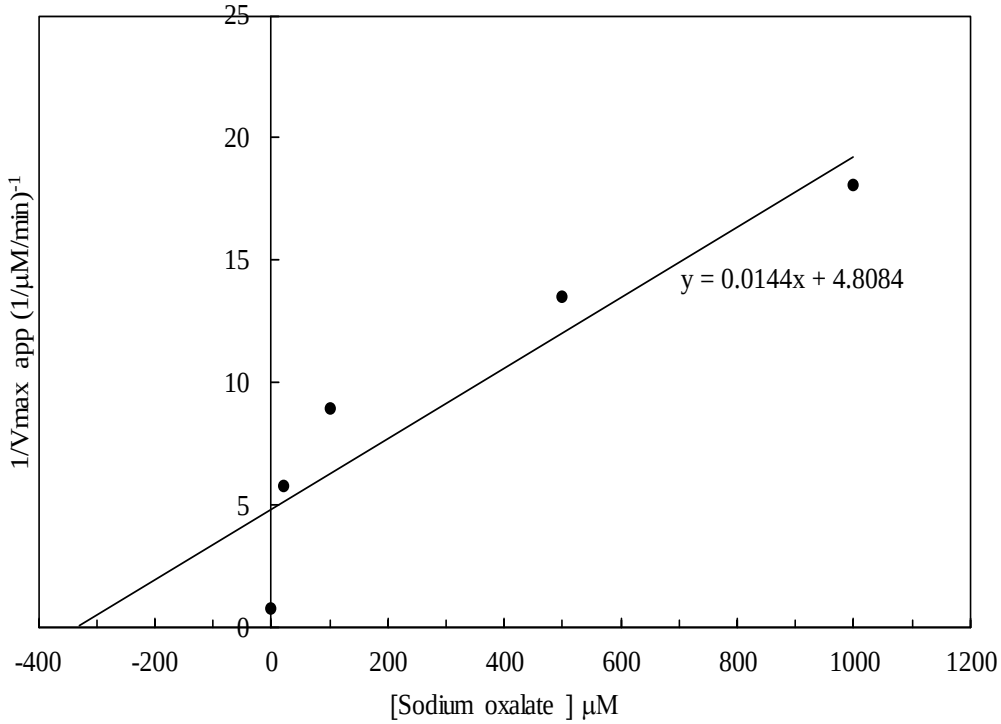
شکل ۲- منحنی جفت معکوس لاینویور-برگ آنزیم کربنیک انهیدراز در عدم حضور و حضور اتیلن دی آمین



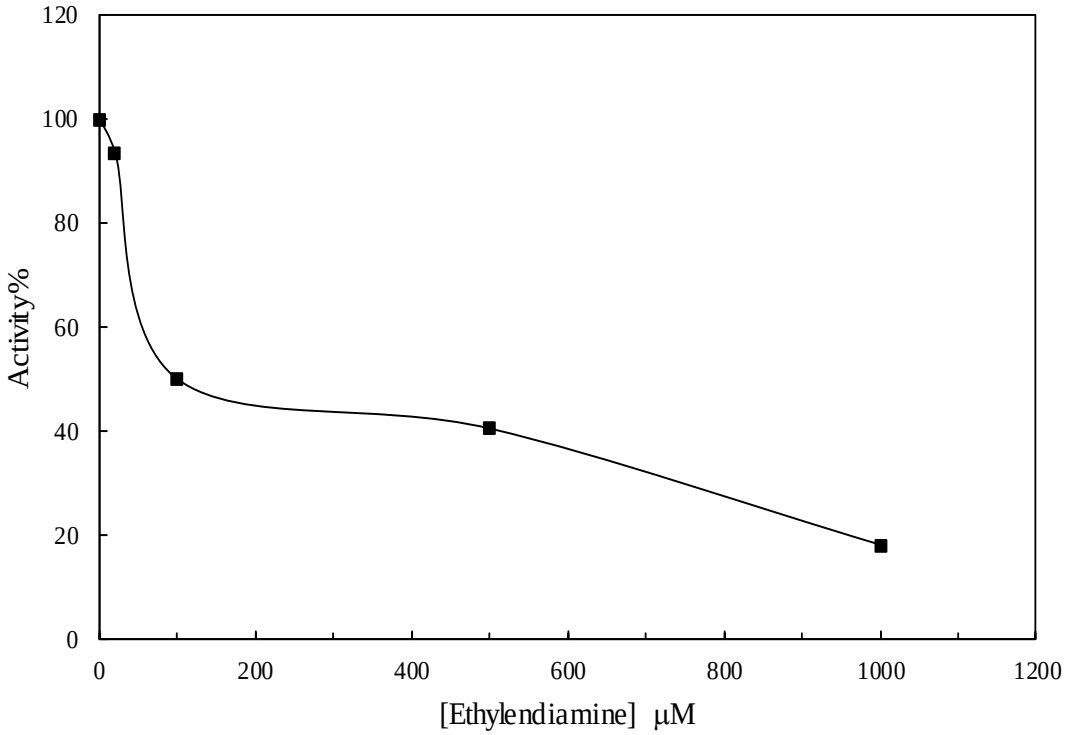
شکل ۳- منحنی جفت معکوس لاینویور-برگ آنزیم کربنیک انهیدراز در عدم حضور و حضور سدیم اگزالات



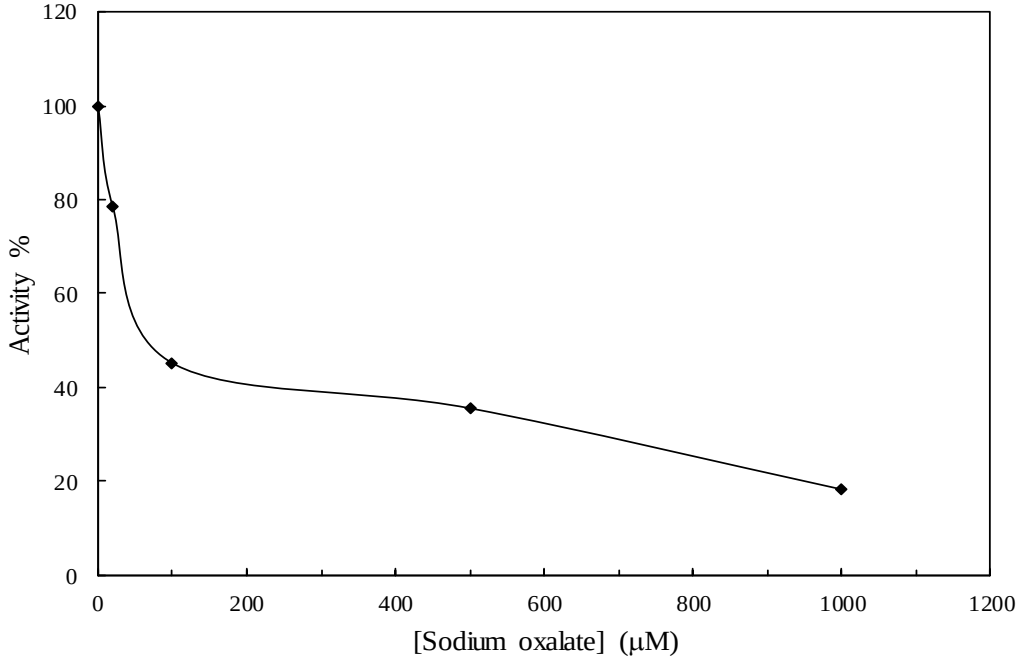
شکل ٤- منحنی ثانویه معکوس که از منحنی ۲ مشتق شده است.



شکل ۵- منحنی ثانویه معکوس که از منحنی ۳ مشتق شده است.



شکل ۶- اثر غلظت‌های مختلف اتیلن دی آمین بر آنزیم کربنیک انهیدراز



شکل ۷- اثر غلظت‌های مختلف سدیم اگزالات بر آنزیم کربنیک انهیدراز

بحث

مطالعات مهار شوندگی آنزیم‌ها در زمینه‌های متعددی همچون تولید داروها و آنتی‌بیوتیک‌ها، طراحی مواد نگهدارنده، تولید سموم و آفات گیاهی کاربرد دارد. فرآیند مهار آنزیمی یکی از مهم‌ترین مکانیزم‌های سلولی است و در شناسایی ویژگی آنزیم‌ها نیز کاربرد فراوانی دارد. بسیاری از بیماری‌ها در ارتباط با ایزوزیم‌های کربنیک انهیدراز هستند. تعدادی از این بیماری‌ها به علت نقص و تعدادی دیگر به علت بیان بالای بعضی از ایزوزیم‌های CA در بافت‌های مختلف بدن ایجاد می‌شوند (۱۵).

در بدن، اسید اگزالیک با کاتیون‌های دو ظرفیتی فلزی مانند کلسیم (Ca^{2+}) و آهن (Fe^{2+}) به شکل کریستال در می‌آید که در ادرار به صورت بلور دفع می‌شود. این کریستال می‌تواند در فرم‌های بزرگتر به سنگ کلیه تبدیل گردد که توبول‌های کلیوی را مسدود کند. کسانی که با اختلالات کلیه، نقرس، آرتریت روماتوئید و یا اشکال خاصی از درد مزمن وولو (ولوودینیا) مواجه‌اند، معمولا توصیه می‌شود از غذاهای سرشار از اگزالیک اسید پرهیز کنند. اخیرا استفاده از روش‌هایی مناسب به منظور کاهش محتوای اگزالات در مواد غذایی مورد توجه قرار گرفته است. اسید اگزالیک همچنین می‌تواند با سوخت و ساز بدن از اتیلن گلیکول، اسید گلیوکسیلیک، یا اسید اسکوربیک (ویتامین C) تولید شود (۱۸). پودر اگزالات به عنوان یک آفت کش در پرورش زنبور عسل برای مبارزه با کنه زنبور عسل استفاده می‌شود. برخی از قارچ‌ها از جنس آسپرژیلوس تولید اسید اگزالیک می کنند (۱۹). مصرف بالای اگزالات ممکن است باعث بیماری‌های کلیوی و یا حتی مرگ شود. اتیلن دی آمین نیز با رطوبت موجود در هوای مرطوب واکنش می‌دهد و مه‌ای خورنده، سمی و آزار دهنده تولید می‌کند که در معرض چنین مه‌ای قرار گرفتن حتی برای مدت بسیار کوتاهی، باعث ایجاد صدمات شدید به سلامتی می‌شود.

در این بررسی تأثیر مهاری دو ترکیب سدیم

اگزالات و اتیلن دی آمین بر آنزیم کربنیک انهیدراز مطالعه گردید. با توجه به نتایج بدست آمده دو ترکیب فوق به عنوان مهارکننده آنزیم کربنیک انهیدراز نقش ایفا می‌کنند. اتیلن دی آمین به صورت رقابتی موجب مهار آنزیم می‌گردند. مهارکننده رقابتی، ماده‌ای است که با آنزیم آزاد پیوند داده و در نتیجه از پیوند شدن سوبسترا با آنزیم جلوگیری می‌کند. به عبارتی، مهارکننده با سوبسترا بر سر یک جایگاه واحد آنزیم، با هم رقابت می‌کنند. اتیلن دی آمین ترکیبی با اندازه کوچک است و به آسانی در جایگاه فعال آنزیم قرار می‌گیرد (۲۰). مطالعات پیشین نیز قدرت مهاری اتیلن دی آمین را گزارش کرده‌اند (۲۱). در مطالعه‌ای مستقل نقش مهاری اتیلن دی آمین بر آنزیم تیروزیناز بررسی گردید و نقش محهاری این ترکیب مشاهده شد و در آن مطالعه نیز نشان داده شد که اتیلن دی آمین به صورت رقابتی موجب مهار فعالیت آنزیم تیروزیناز می‌گردد (۲۰). با توجه به نتایج بدست آمده مهار سدیم اگزالات از نوع ضد رقابتی می‌باشد. مهارکننده ضد رقابتی یا نارقابتی تنها می‌تواند کمپلکس آنزیم – سوبسترا را بشناسد و نمی‌تواند با آنزیم به تنهایی اندرکنش دهد. جایگاه اتصال مهارکننده در این نوع مهار نیز همانند مهار غیررقابتی، مکانی متفاوت از مکان اتصال سوبسترا (جایگاه فعال) است. به عبارتی، این نوع مهارکننده به طور ویژه، کنفورماسیون تغییر یافته کمپلکس آنزیم – سوبسترا را می‌شناسد.
مطالعات قبل نقش سدیم اگزالات را در مهار آنزیم پیروات کیناز و کاتالاز نشان داده‌اند (۲۲, ۲۳). مطالعات کریستالوگرافی اشعه ایکس نشان می‌دهد یون Zn^{2+} در پایین جایگاه فعال آنزیم کربنیک انهیدراز قرار دارد و با سه هیستیدین ۹۴، ۹۶ و ۱۱۹ و مولکول آب/یون هیدروکسید پیوند کوئوردینانس دارد. بسیاری از مطالعات بیانگر آن است که اغلب مهارکننده‌ها موجب مهار توانایی اتصال یون Zn^{2+} در جایگاه فعال آنزیم می‌گردند (۲۴).

معمولا در مقالات تنها به ذکر IC_{50} بسنده می‌شود و این در حالی است که K_i جهت بررسی سنتیک مهار موثرتر است. لذا در این مطالعه هر دو پارامتر از طریق رسم نمودار جفت معکوس لاینویور-برگ محاسبه گردید. با توجه به جدول ۱ میزان IC_{50} و K_i نشان دهنده قوی‌تر بودن اثر مهارکنندگی سدیم اگزالات بر آنزیم کربنیک انهیدراز نسبت به اتیلن دی آمین است. مقالات بسیاری در زمینه مهار آنزیم کربنیک انهیدراز منتشر شده است (۲۵-۲۷) که همگی دلالت بر اهمیت مهار آنزیم کربنیک انهیدراز دارد. همانگونه که اشاره شد اتیلن دی آمین و سدیم اگزالات موجب مهار آنزیم کربنیک انهیدراز می‌شود لذا باید در میزان مصرف آنها بخصوص در صنعت به عنوان آفت کش، کود شیمیایی و افزودنی دارویی دقت فراوان به عمل آید. زیرا نقص در این آنزیم موجب بروز بیماری‌هایی همچون گلوکاما و پیشرفت بیماری استئوپروز در بدن می گردد. در اثر اختلال در عملکرد این آنزیم بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک از جمله تنفس، فتوسنتز، تنظیم pH، جابجایی و انتقال دی اکسید کربن و بی کربنات، انتقال یون، تعادل آب و الکترولیت، کلسی فیکاسیون، تعادل اسید و باز، تولید مایع زلالیه، تولید مایع مغزی- نخاعی و انجام برخی از واکنش‌های بیوساختی نیز تحت تأثیر قرار خواهد گرفت.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج بدست آمده اتیلن دی آمین و سدیم اگزالات موجب مهار آنزیم کربنیک انهیدراز می‌شوند. همچنین سدیم اگزالات اثر مهارکنندگی قوی‌تر نسبت به اتیلن دی آمین دارد. اختلال در عملکرد آنزیم کربنیک انهیدراز ممکن است منجر به اختلال در عملکرد فرآیندهای فیزیولوژیک و بروز برخی بیماری‌ها گردد. بنابراین باید در میزان مصرف آنها بخصوص در صنعت دقت لازم به عمل آید.

منابع و مآخذ

1. Lindskog S. Structure and mechanism of carbonic anhydrase. Pharmacology & therapeutics. 1997;74(1):1-20.
2. Smith KS, Ferry JG. A plant-type (beta-class) carbonic anhydrase in the thermophilic methanoarchaeon Methanobacterium thermoautotrophicum. Journal of bacteriology. 1999;181(20):6247-53.
3. Smith KS, Ferry JG. Prokaryotic carbonic anhydrases. FEMS microbiology reviews. 2000;24(4):335-66.
4. Supuran CT, Vullo D, Manole G, Casini A, Scozzafava A. Designing of novel carbonic anhydrase inhibitors and activators. Current medicinal chemistry Cardiovascular and hematological agents. 2004;2(1):49-68.
5. Peperidou A, Bua S, Bozdag M, Hadjipavlou-Litina D, Supuran CT. Novel 6-and 7-Substituted Coumarins with Inhibitory Action against Lipoxygenase and Tumor-Associated Carbonic Anhydrase IX. Molecules. 2018;23(1):153.
6. Supuran CT, Scozzafava A, Casini A. Carbonic anhydrase inhibitors. Medicinal research reviews. 2003;23(2):146-89.
7. Meldrum NU, Roughton FJW. Carbonic anhydrase. Its preparation and properties. The Journal of physiology. 1933;80(2):113-42.
8. Stadie WC, O'Brien H. The catalysis of the hydration of carbon dioxide and dehydration of carbonic acid by an enzyme isolated from red blood cells. Journal of Biological Chemistry. 1933;103(2):521-9.
9. Keilin D, Mann T. Carbonic Anhydrase. Purification and Nature of the Enzyme. Nutrition Reviews. 1985;43(5):150-2.
10. Dean PA. The Oxalate Dianion, C2O42–: Planar or Nonplanar? Journal of Chemical Education. 2011;89(3):417-8.
11. Streitwieser A, Heathcock CH, Kosower EM, Corfield PJ. Introduction to organic chemistry: Macmillan New York; 1992.
12. Pak CY. Urolithiasis: a medical and surgical reference: WB Saunders Company; 1990.
13. Arpe H-J. Industrielle Organische Chemie. Wiley-VCH, Weinheim. 2007.
14. Hogan D. Allergic contact dermatitis to ethylenediamine. A continuing problem. Dermatologic clinics. 1990;8(1):133-6.
15. Sly WS, Hu PY. Human carbonic anhydrases and carbonic anhydrase deficiencies. Annual review of biochemistry. 1995;64(1):375-401.
16. Pocker Y, Storm DR. Catalytic versatility of erythrocyte carbonic anhydrase. IV. Kinetic studies of enzyme-catalyzed hydrolyses of p-nitrophenyl esters. Biochemistry. 1968;7(3):1202-14.
17. Mehrabi M, Ghobadi S, Khodarahmi R. Spectroscopic study on the interaction of celecoxib with human carbonic anhydrase II: Thermodynamic characterization of the binding process. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2009;97(3):161-8.
18. Mandl J, Szarka A, Banhegyi G. Vitamin C: update on physiology and pharmacology. British journal of pharmacology. 2009;157(7):1097-110.
19. Pabuççuog˘lu U. Aspects of oxalosis associated with aspergillosis in pathology specimens. Pathology-Research and Practice. 2005;201(5):363-8.
20. Alijanianzadeh M, Saboury AA, Ganjali MR, Hadi-Alijanvand H, Moosavi-Movahedi AA. The

inhibitory effect of ethylenediamine on mushroom tyrosinase. International journal of biological macromolecules. 2012;50(3):573-7.

21. Gasowska B, Kafarski P, Wojtasek H. Interaction of mushroom tyrosinase with aromatic amines, o-diamines and o-aminophenols. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. 2004;1673(3):170-7.
22. Kremer BT, Stahly TS, Sebranek JG. Effect of dietary sodium oxalate on pork quality. 1999.
23. Bhattacharya D. Renal and hepato protective effects of green tea (camellia sinensis) extract on wistar rats treated with sodium oxalate. International Journal of Pharma and Bio Sciences. 2016;7.
24. Lindskog S, Silverman DN. The catalytic mechanism of mammalian carbonic anhydrases. Exs. 2000(90):175-95.
25. Maren TH. Carbonic anhydrase: chemistry, physiology, and inhibition. Physiological Reviews. 1967;47(4):595-781.
26. Drews J. Drug discovery: a historical perspective. Science. 2000;287(5460):1960-4.
27. Owa T, Nagasu T. Novel sulphonamide derivatives for the treatment of cancer. Expert Opinion on Therapeutic Patents. 2000;10(11):1725-40.