آشنایی با

پایان‌نامه‌های داروسازی

عنوان:
استخراج و تخلیص پروترومبین از کمپلکس فاکتور II و تعیین pK_a گره‌های فعال

استاد راهنما:
دکتر بیژن فرزامی

نگارش:
علیرضا امینی ابیانه

زمان:
سال تحصیلی ۷۱-۷۰

مکان:
دانشگاه علوم پزشکی تهران

خلاصه

در این پایان‌نامه با استفاده از کروماتوگرافی تعویض آنیونیک، به کمک رزین DEAE - Cellulose و با استفاده از گرادیان مرحله‌ای gradient - Step - Wise پروترومبین با درجه خلوص و نیز فعالیت مخصوص Specific activity بسیار بالایی به دست آمد. کنترل فرآیند تخلیص به دو طریق انجام یافت. نخستین مرحله، اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی مراحل مختلف تخلیص بود که برای این امر از آنجا که پروترومبین یک پروآنزیم بوده و تنها راه ارزیابی آن تبدیل نمودن پروترومبین به فرم فعال آنزیمی آن یعنی آنزیم ترومبین بود. ابتدا با استفاده از یک محیط شبه فیزیولوژیک (Quasi - Physiologic) که در آن کلیه فاکتورهای انعقادی مسیر خارجی انعقاد موجود بود، پروترومبین را به ترومبین تبدیل نموده و سپس با استفاده از دو تکنیک ترومبین حاصل را ارزیابی نمودیم. نخستین تکنیک بر پایهٔ استفاده از خاصیت بیولوژیک ترومبین یعنی تبدیل نمودن فیبرینوژن به فیبرین بود که در این مرحله با استفاده از متد اصلاح شده Seegers و Ware فعالیت مخصوص پیک‌های حاصله را با واحد بین‌المللی NIH unit به دست آوردیم.

دومین تکنیک مورد استفاده برای ارزیابی ترومبین استفاده از خاصیت ترومبین بر

سوبسترای TAME (Tosyl Argenin Methyl Ester) بود که مطالعات کینتیکی بعدی را بر روی این آنزیم ممکن ساخت. نتایج بدست آمده با کمک این دو تکنیک همگی حکایت از وجود پروترومبین در پیک ۴ به دست آمده از ستون کروماتوگرافی داشت که فعالیت آنزیمی آن برابر ۱۳۳۲ NIH unit/mg بود که این میزان فعالیت آنزیمی در مقایسه با بهترین نتایج ارائه شده و همچنین پروترومبین استاندارد موجود از فعالیت آنزیمی بالایی برخوردار بود. دومین مرحله کنترل فرآیند تخلیص، استفاده از تکنیک الکتروفورز با متد Leammeli بود که مقایسه نتایج به دست آمده حاکی از خلوص بهتر پروترومبین استخراج شده نسبت به پروترومبین استاندارد بود. همچنین به کمک این تکنیک و با استفاده از استانداردهای وزن مولکولی پروترمبین استخراج گردید که برابر ۶۸۴۰۰ دالتون بود.

از نتایج بسیار مهم به دست آمده در این پایان نامه تعیین pK_a گروه‌های فعالی آنزیمی موجود در ساختمان پروترومبین با استفاده از یک روش جدید تعیین pK_a بود که در آن به کمک اتصال یون فلزی (کلسیم) به ساختمان پروتئین و با استفاده از یک تکنیک اسپکتروسکوپی ساده می‌توان pK_a گروه‌های عامل موجود در ساختمان مولکول را با دقت زیاد به دست آورد که این امر بر تکنیک‌های کلاسیک رایج و پردردسر موجود در تعیین pK_a رجحان دارد.

مرحلهٔ بعدی تحقیقات ما بر پایهٔ اثر یون کلسیم در محافظت از آنزیم ترومبین در برابر اثر مهارکننده بود، مهارکننده انتخابی برای انجام آزمایش مولکول TLCK (N - P - Tosyl - L - Lysine Chloromethyl Ketone) بود که در تحقیقات در زمینه مهار کنندگان آنزیمی از اهمیت زیادی برخوردار است.

اثر مهار کننده TLCK بر ترومبین ارزیابی گردید. نتایج به دست آمده حاکی از آن بود که این مهارکننده در طی دو مرحله جداگانه بر آنزیم تأثیر می‌گذارد (Biphasic) که یک مرحله آن سریع و همراه با شیب تند در تغییر فعالیت آنزیمی است و مرحلهٔ بعدی آهسته‌تر بوده و از طول مدت بیشتری برخوردار است (مرحلهٔ Rate Limiting). از جانب دیگر با رسم نمودار لگاریتم شیب واکنش اول مهار شوندگی در مقابل لگاریتم منفی غلظت مهار کننده چنین نتیجه گرفته شد که دو مولکول مهار کننده با یک مولکول ترومبین در روند مهار شوندگی واکنش می‌دهد.

سپس اثر TLCK با یک غلظت مشخص در غلظت معینی از ترومبین در حضور و عدم حضور یون کلسیم در pH های متفاوت بررسی گردید که نتایج حاصله حاکی از نقش یون کلسیم در محافظت از ترومبین در مقابل عمل مهارکننده TLCK بود که نقش اصلی محافظتی آن در مرحلهٔ دوم مهار شوندگی آنزیم می‌باشد که مرحلهٔ Rate Limiting واکنش آنزیم - مهار کننده می‌باشد. نکته جالب توجه آن بود که نتایج به دست آمده نشان داده که یون کلسیم در مواضعی از pH که دارای بیشترین میل ترکیبی با عوامل ریشه‌های اسیدهای آمینه پروتئین بود و در این تحقیقات شناسایی گردیدند توانستند بیشترین مقاومت را در مقابل مهار کننده TLCK نشان دهند و به نظر می‌رسد که این کیفیت قادر است نشان دهد که اولاً شناسایی پیوند کلسیم در

مواضع ذکر شده از دقت کامل برخوردار است و همچنین ترکیب‌کلسیم با آنزیم در pH های معینی باعث افزایش قدرت مقاومت آنزیم در مقابل مهارکنندگان می‌شود. این نتایج در گزارشات قبلی در پیوند یون کلسیم با آنزیم‌های پروتئولیتیک به دست آمده است.

* * *

عنوان:

اثرات خونی عصاره قارچ فوزاریوم و T-2 toxin در موش سوری

اساتید راهنما:

دکتر مهدی رضایت ـ دکتر عبدالحسین افکاری

نگارش:

حسین حاج ابوالحسنی

زمان:

۱۳۷۲ـ۷۳

مکان:

دانشگاه علوم پزشکی مشهد

خلاصه

در این تحقیق اثرات خونی دوزهای منفرد عصاره تخلیص شده قارچ فوزاریوم و T-2 toxin در موش سوری مورد بررسی قرار گرفته است. عصاره قارچ فوزاریوم با دوزهای ۰/۱۲۵ mg/kg و ۰/۲۵ و T-2 toxin با دوزهای ۰/۰۶۲۵ mg/kg، ۰/۱۲۵ و ۰/۲۵، ۶ ساعت پس از تزریق داخل صفاقی باعث کاهش تعداد تام گلبولهای سفید و لنفوسیت‌ها گردیدندکاهش لنفوسیت‌هاحداکثر تا ۱۲ ساعت پس از ترزیق ادامه یافت. همچنین این سموم ۱۲ ساعت پس از تزریق سبب افزایش نوتروفیلها شدند. ۶ ساعت پس از تزریق دوز ۰/۵ mg/kg از عصاره باعث افزایش تعداد تام گلبولهای سفید گردید. عصاره قارچ فوزاریوم و T-2 toxin باعث کاهش نسبت رده میلوئید به لنفوئید در مغز استخوان شدند کاهش این نسبت مربوط به نقصان رده لنفوئید است و توقف عمل رده اریتروئید با بروز کاهش رتیکولوسیتهای خون مشخص گردید. ۲۴ ساعت پس از تزریق داخل صفاقی دوز ۰/۵ mg/kg از عصاره قارچ فوزاریوم سبب کاهش پلاکتهای خون گردید. عصاره قارچ فوزاریوم و T-2 toxin هیچ اثری روی تعداد گلبولهای قرمز، درصد هماتوکریت، میزان هموگلوبین، اندیسهای گلبولی و تعداد منوسیتهای خون ندارند. این سموم فاقد قدرت همولیتیک هستند. تغییرات خونی عصاره قارچ فوزاریوم و T-2 toxin، ۲۴ ساعت پس ازتزریق به حالت طبیعی برگشت نمودند. به نظر می‌رسد که تغییرات خونی حاصل از T-2 toxin، از یک الگوی خاص پیروی‌می‌کند که وابسته به زمان و دوز است.

* * *

عنوان:

اثر آنتاگونیست‌های گیرنده $5-HT_2$ بر تولرانس ناشی از مرفین در موش سوری

اساتید راهنما:

دکتر محمدرضا زرین‌دست

دکتر مهدی رضایت

نگارش:

مجید ساجدیان

زمان:

۷۳-۱۳۷۲

مکان:

دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

خلاصه

۱-مرفین با دوزهای ۳mg/kg، ۶ و ۹ بیدردی وابسته‌به دوزی را درموش سوری ایجادمی‌کند.

۲-تجویز سوسپانسیون مرفین با دوز mg/kg ۳۰۰ در موش سوری ایجاد تحمل نسبت به اثر بیدردی مرفین، ۷۲ ساعت پس از تزریق می‌کند.

۳-تزریق متی سرژاید به عنوان آنتاگونیست غیر اختصاصی با دوز mg/kg ۲ در روزهای دوم، سوم و چهارم پس از تجویز سوسپانسیون مرفین و اندازه‌گیری میزان بیدردی در روز چهارم توسط مرفین mg/kg ۹، نمایانگر کاهش تولرانس ایجاد شده توسط مرفین می‌باشد که تجویز متی سرژاید در روز سوم بهترین اثر را داشته است.

۴-تزریق ری تانسرین به عنوان آنتاگونیست $5-HT_2$ با دوز mg/kg ۲ در روزهای دوم، سوم و چهارم پس از تجویز سوسپانسیون مرفین، نمایانگر کاهش تولرانس مرفین می‌باشد که همانند متی سرژاید بهترین اثر در روز سوم مشاهده شده است.

۵-تجویز متی سرژاید و مترگولین (آنتاگونیستهای غیر اختصاصی 5-HT) و ری تانسرین و میانسرین (آنتاگونیستهای $5-HT_2$) با دوزهای mg/kg ۲ و ۱ در روز سوم پس از تزریق سوسپانسیون مرفین، تولرانس ایجاد شده توسط مرفین را کاهش می‌دهند.

۶-تجویز پروپرانولول به عنوان آنتاگونیست $5-HT_1$ با دوز mg/kg ۲۰ در روز سوم، به میزان کمتری نسبت به آنتاگونیستهای $5-HT_2$ تولرانس مرفین را کاهش می‌دهد.

نتایج به دست آمده ضمن تأکید بر دخالت 5-HT در تحمل نسبت به اثر بیدردی مرفین حاکی از آن است که گیرنده‌های $5-HT_2$ در تولرانس نسبت به اثر بیدردی مرفین دخیل می‌باشند.