التفاعلات اللونية لبعض الأحماض الأمينية

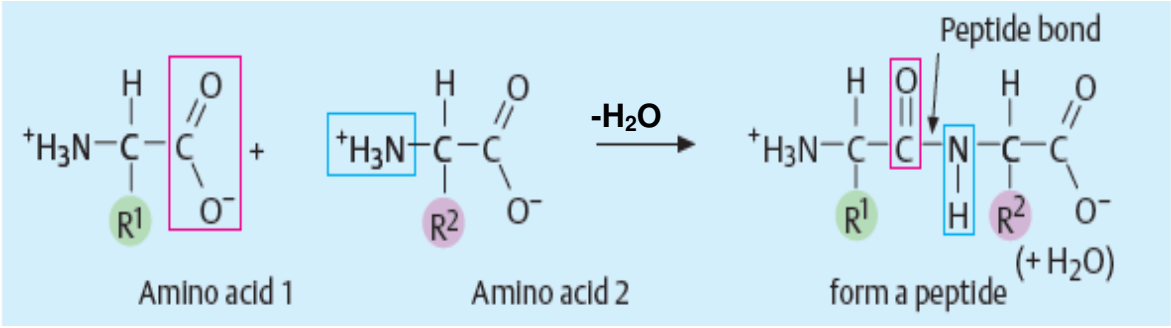
هناك أحماض أمينية تحتوي كل منها على مجموعة فعالة معينة ويستفاد من هذه المجاميع لتشخيص العديد من الأحماض الأمينية من خلال تفاعلات لونية معينة وفي **الجدول (3-5)** أدناه التفاعلات اللونيـــة لـــبعض الأحماض الأمينية:

الجدول(3-5) : التفاعلات اللونية لبعض الأحماض الأمينية.

أسم الكشف	الحامض الأميني المشخص	اللون
ساكاكوجي Sakaguchi	أرجنين	أحمر
تفاعل نايتروبروسايد Nitroprussid	سستين	أحمر
سولڤان Sulivan	سستين	أحمر
باولي Pauly	هستيدين، تايروسين	أحمر
هوبكن كول (Hopkins- Cole) حامض كلايوكسيلك(Glyoxlic acid)	تربتوفان	بنفسجي
ارليج Ehrlich	تربتوفان	ازرق
ميلون Millon	تايروسين	أحمر
فولن- جيكالتو Folin-Ciocalteu	تايروسين	أحمر
زانثوبروتيك Xanthoproteic	تايروسين، تربتوفان، فينايل الانين	أصفر
روزن هيم Rosen heium	تربتوفان	أزرق او بنفسجي
ألفا- نايتروزو- بيتا- نفثول α- Nitroso-β-naphthol	تايروسين	أحمر
اورثوفثالديهايد O-phthaldehyde	الكلايسين والتورين Taurine	أحمر
اساتين Isatin	برولين وهيدروكسي برولين	أزرق

الببتيدات Peptides

الببتيد هو عبارة عن حامضين أمينين مرتبطين مع بعضهما بوساطة أصرة الببتيد Peptide bond والتي تسمي أيضاً أصرة أميد Amide bond، وتتكون الآصرة من تفاعل مجموعة ألفا- كاربوكسيل من حـــامض أميني مع مجموعة ألفا- أمين من حامض أميني أخر بطرح جزئية ماء **(الشكل 12-5)**.



الشكل(12-5) : تكوين أصرة الببتيد Peptide bond.

وتقسم الببتيدات اعتماداً على عدد الأحماض الأمينية الى:

أ- ثنائية الببتيدات Dipeptides : وهي متكونة من وحدتين من الأحماض الأمينية.

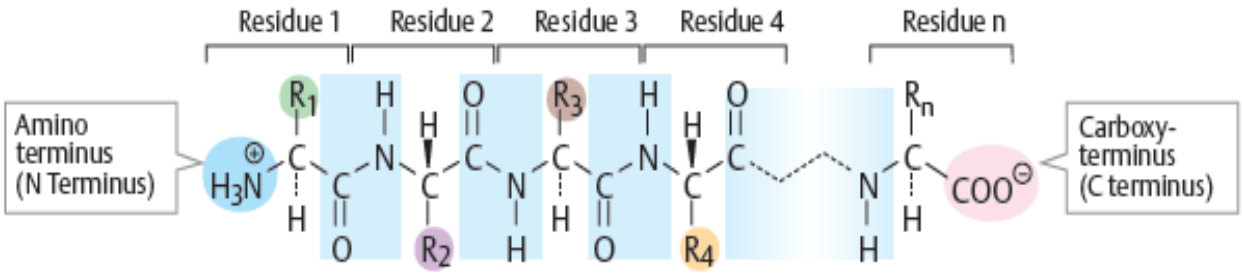
ب- ثلاثية الببتيدات Tripeptides : تتكون من ثلاث وحدات من الأحماض الأمينية.

جـ- رباعية الببتيدات Tetrapeptides: تتكون من أربع وحدات من الأحماض الأمينية.

د- وهناك أمثلة أخرى مثل الخماسية والسداسية والسباعية.. الخ.

وهذه الأنواع المذكورة أعلاه تتبع مجموعة الببتيدات قليلة الوحدات Oligopeptids او الببتيدات البسيطة Simple peptides أما إذا زادت أعداد الأحماض الأمينية في الببتيد عن عشرة يطلق عليه الببتيد المتعـــدد Polypeptide. ويجب التأكيد هنا بأن عدد أواصر الببتيد اقل بواحدة من عدد الأحماض الأمينية. فضلاً عن ذلك فهناك ببتيدات حلقية Cyclic peptides وتكون خالية من النهايتين الأمينية والكاربوكسيلية. ونوع ثالث من الببتيدات التي تكون بشكل متفرع ومتشعب لتكون الببتيدات المتشعبة Branched peptides .

ومعظم الببتيدات تكون على شكل سلسلة مفتوحة ذات نهايتين الأولى في أقصى اليسار وتدعى طرف النهاية الأمينية والأخرى في أقصى اليمين وتدعى طرف النهاية الكاربوكسيلية. وتسمى الأحماض الأمينية في الببتيد ابتداء من النهاية الأمينية وصولاً الى النهاية الكاربوكسيلية(**الشكل 13-5**) والتي تستخدم عادةً الرموز للأحماض الأمينية عند قراءة الببتيد.



الشكل(13-5): النهاية الكاربوكسيلية والأمينية Carboxy and amino terminus للببتيدات.

يمكن استخدام ثلاثة أحرف او حرفاً واحداً يميز الحامض الأميني دون الأخر للتعبير عن تسلسل ونوعية الببتيدات في السلسلة الببتيدية ذات الاتجاه الواحد، وهذا الترتيب يبدأ كتابته من النهاية الأمينية وصولاً الى النهاية الكاربوكسيلية على سبيل المثال: الهورمون الببتيدي أنجيوتنسن II (Angiotensin II) عند استخدام ثلاث حروف يكون له ترتيب : Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe أو يكتب DRVYIHPF عند استخدام حرف واحد لتميز الأحماض الأمينية وتسلسلها.

الأواصر الببتيدية عنصر مهم في تركيب البروتينات

أن من أهم الإثباتات كون الأواصر الببتيدية هي الأواصر الأساسية الداخلة في تركيب البروتينات يمكن تلخيصها من خلال الملاحظات الآتية:

1- إن الإنزيمات المحللة للبروتينات مائياً تنتج ببتيدات علماً إن هذه الإنزيمات تختص بتحلل أواصر الببتيدات في البروتين.
2- إن دراسة طيف الأشعة تحت الحمراء للبروتينات يؤكد وجود عدد من أواصر الببتيدات فيها.
3- لقد تم مختبرياً صنع الأنسولين بوساطة اتحاد الحوامض الأمينية بوساطة أواصر من نوع الببتيد.
4- إن البروتينات تحتوي على عدد قليل من مجاميع الكاربوكسيل والأمين بصورة حرة والتي يمكن تسحيحها Titration.
5- إن البروتينات والببتيدات المتعددة المصنعة كيميائياً تتفاعل بسهولة مع كاشف بايوريت Biuret reagent مكونة لوناً بنفسجياً أو أرجوانياً خاصةً إن هذا الكاشف المذكور يتفاعل مع اثنين أو أكثر من الأواصر الببتيدية.
6- من دراسة حيود الأشعة السينية X - Ray diffraction تم الكشف وبصورة قاطعة على وجود الأواصر الببتيدية لبروتينات المايوكلوبين Myoglobin والهيموكلوبين Hemoglobin.

الصفات القاعدية والحامضية للببتيدات

للببتيدات درجات انصهار عالية، مما يساعد على قابلية تبلورها من المحاليل المتعادلة بشكل أيوني وقطبي الصفات، وتعود الصفات القاعدية والحامضية للببتيدات الى المجاميع النشطة غير المتحدة للأواصر الببتيدية ونظراً لابتعاد المجاميع الأمينية الحرة عن المجاميع الكربوكسيلية الحرة أكثر من المسافة الموجودة في الحامض الأميني فينتج عن ذلك ضعف في التصادم الكهربائي وغيره بينهما وتصبح حينئذ قيم ثابت التفكك لمجاميع الألفا كاربوكسيل أعلى من المجاميع الكاربوكسيلية نفسها الموجودة في الأحماض الأمينية بينما هذا الثابت للمجاميع الأمينية أقل قيمة من تلك الموجودة في الأحماض الأمينية **(الجدول 4-5)**.

جدول (4–5) : ثابت التفكك لبعض الأحماض الأمينية والببتيدات.

أسم الحامض الأميني او الببتيد	ثابت التفكك pK	
	الألفا كاربوكسيل	ألالفا امين
Gly	2.34	9.6
Gly-Gly	3.06	8.13
Gly-Gly-Gly	3.26	7.91
Gly-Asp	2.81	8.6
Ala	2.34	9.69
Ala-Ala-Ala-Ala	3.42	7.44
Ala-Ala-lys-Ala	3.58	8.01

بعض الببتيدات المهمة حياتياً

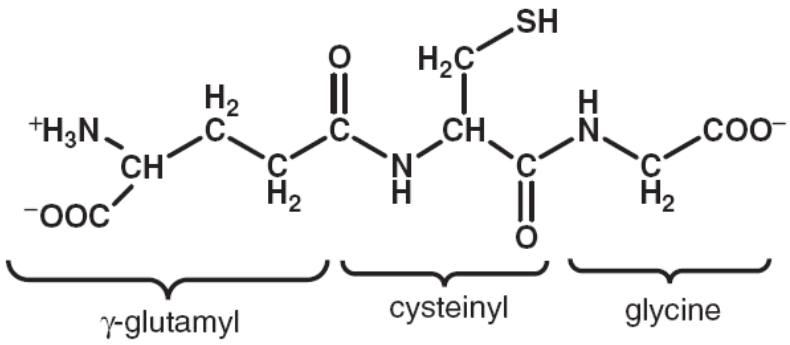
تحتوي الخلايا الحيوانية والنباتية والبكتيرية على أنواع مختلفة من ببتيدات غير بروتينية ذات أوزان جزيئية صغيرة لها أهمية حياتية كبيرة فمنها ما هو هورمون ومنها ما هو مضاد حيوي Antibiotic والنوع الثالث لا ينتمي الى ما تقدم ولكن له أهمية حياتية كبيرة وفيما يأتي بعض هذه الببتيدات التي تبنى داخل الخلايا بصورة مستقلة وليست نواتج تحلل البروتينات:

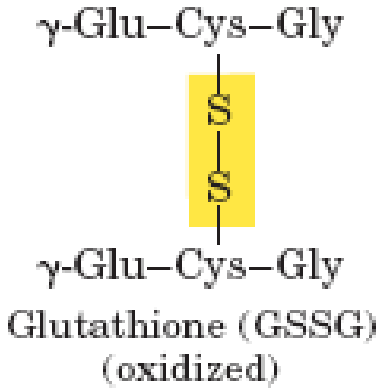
1- الكلوتاثايون Glutathione

الكلوتاثايون من الببتيدات الثلاثية Tripeptides ويتألف من حامض الكلوتاميك والسستين والكلايسين ويرمز له GSH **(الشكل 14–5)**، وهو موجود في السايتوبلازم والمايتوكوندريا والنواة في الحيوانات والنباتات والبكتريا وأهم وظيفة للكلوتاثايون أنه يعد من مضادات الأكسدة Antioxidants الذائبة بالماء التي تعمل على إزالة العديد من المواد المؤكسدة Oxidants المتكونة في الجسم من خلال تفاعلها معهم ومثال على ذلك: جذر الهيدروكسيل (·OH) Hydroxyl radical والذي يتم إزالته **كما في المعادلات الآتية:**

$$\underset{\text{الكلوتاثايون المختزل}}{GSH} + \underset{\text{جذر الهيدروكسيل}}{{}^{\cdot}OH} \longrightarrow \underset{\text{جذر الكلوتاثايون}}{GS^{\cdot}} + \underset{}{H_2O}$$

$$\underset{}{GS^{\cdot}} + \underset{}{GS^{\cdot}} \longrightarrow \underset{\text{الكلوتاثايون المؤكسد}}{GSSG}$$





الشكل(14–5): الكلوتاثايون المختزل والكلوتاثايون المؤكسد.

إن احتواء GSH على مجموعة الثايول SH– تجعله من العوامل المختزلة التي لها القابلية على أعطاء ذرة الهيدروجين. ويعمل الكلوتاثايون مع إنزيم كلوتاثايون بيروكسيديز Glutathione peroxidase (GPx) على إزالة مركبات البيروكسيدات العضوية (ROOH) وبيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2). إذ يتفاعل كلوتاثايون مع كلٍ من هذه المركبات لينتج كلوتاثايون مؤكسد (GSSG) **وكما في المعادلات الآتية:**

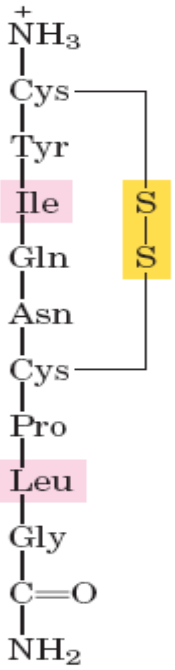
$$2GSH + H_2O_2 \rightarrow GSSG + 2H_2O$$

$$2GSH + ROOH \rightarrow GSSG + ROH + H_2O$$

والوظيفة الأخرى للكلوتاثايون أنه يقوم بنقل الأحماض الأمينية من خارج الخلية الى داخلها بدورة ميستر Meister cycle في الأنابيب البولية والمعي والتي سيتم التطرق لها بالتفصيل في فصل أيض الأحماض الأمينية (الجزء الثاني). وفضلاً عن ذلك فأن الكلوتاثايون ضروري لعمل العديد من الإنزيمات الأخرى وكذلك لعمل هورمون الأنسولين.

2- الأوكسيتوسين Oxytocin

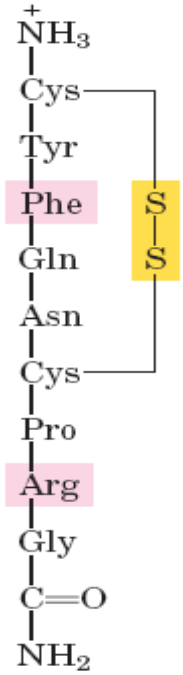
الأوكسيتوسين هورمون حلقي يتكون من تسعة أحماض أمينية **(الشكل 15-4)** يفرز من الفص الخلفي للغدة النخامية، ويكثر إفرازه أثناء العمل اذ يعمل على تقلص الرحم أثناء الولادة كما يقوم بوظيفة تقلص العضلات الملساء في الغدة اللبنية مؤدياً الى إفراز الحليب.



الشكل(15-5):
الهورمون الببتيدي أوكسيتوسين.

3- الڤاسوبرسين Vasopressin

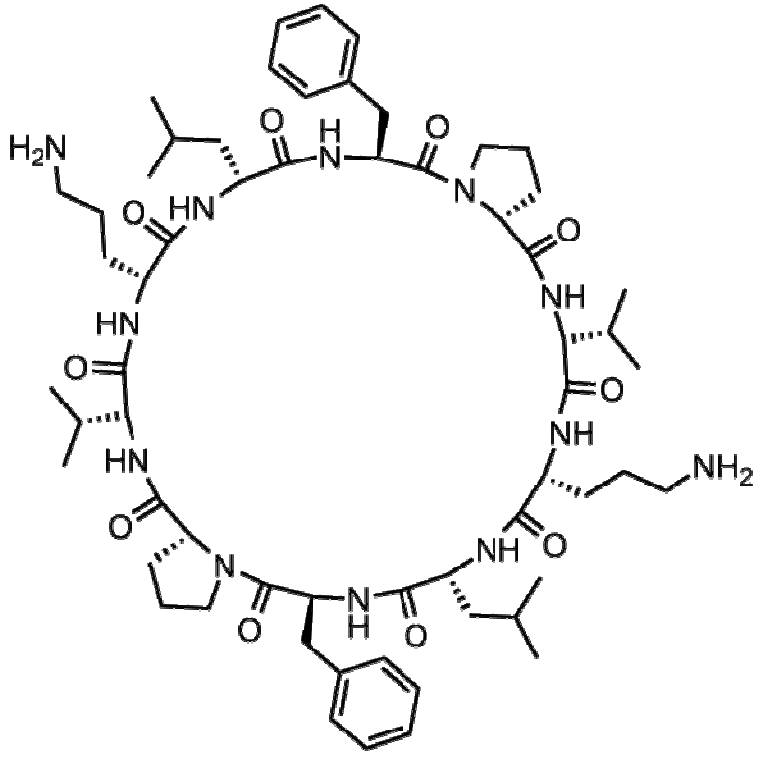
الڤاسوبرسين هورمون حلقي يتكون من تسعة أحماض أمينية **(الشكل 16-5)**. ويفرز أيضاً من الفص الخلفي للغدة النخامية. ويعمل على ارتفاع ضغط الدم عند زيادة تركيزه ويستخدم في عملية تأخير النزيف بعد المخاض.



الشكل(16-5):
الهورمون الببتيدي ڤاسوبرسين.

4- كرامسدين أس Gramicidin S

ببتيد حلقي يتكون من عشرة أحماض أمينية (**الشكل 17-5**) يقوم بوظيفة مضاد حيوي Antibiotic للعديد من أنواع البكتريا (كرام الموجب Gram positive وكرام السالب Gram negative) وكذلك العديد من الفطريات Fungus المرضية.



الشكل(17-5): كرامسدين أس Gramicidin S .

التفاعلات المهمة للأحماض الأمينية والببتيدات

1- التفاعل مع الكاشف ننهايدرين Ninhydrin

تتفاعل جميع الأحماض الأمينية مع النهايدرين لتكوين الألديهايد وثاني أوكسيد الكاربون CO_2 وأمونيا ماعدا الحامض الأميني برولين وهيدروكسي برولين. ان كمية CO_2 المتحررة من هذا التفاعل يمكن ان تستعمل للتقدير الكمي للأحماض الأمينية. اما جزيئة الأمونيا المتكونة في التفاعل نفسه فأنها ترتبط بجزيئتين من ننهايدرين لتكون مركباً أزرق اللون يقاس عند طول موجي 570 نانوميتر، وهذا يشكل الأساس للطريقة اللونية المستعملة في التقدير الكمي للأحماض الأمينية.