بررسی کمپلکس‌های $dTDP^{3-}$ با فلزات دو ظرفیتی و تعیین ثابت‌های اسیدی و پایداری آن‌ها

سیدعلی اکبر سجادی: دانشگاه صنعتی شریف

چکیده

ثابت‌های پایداری کمپلکس‌های ۱ : ۱ ایجاد شده میان M^{2+}: Mg^{2+}, Ca^{2+}, Sr^{2+}, Ba^{2+}، Zn^{2+} Mn^{2+} Cu^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+} و Cd^{2+} با تیمیدین-۵′-دی‌فسفات($dTDP^{3-}$) با تیتراسیون pH پتانسیومتری در محلول آبی(I=۰/۱M ، $NaNO_3$، ۲۵°C) تعیین شد. همین ثابت‌ها با دیگر مشتقات دی‌فسفات ($R\text{-}DP^{3-}$) مقایسه شد. ثابت‌های اسیدی $dTDP^{3-}$ یعنی $K^H_{H_2(dTDP)}$ و $K^H_{H(dTDP)}$ و $K^H_{(dTDP)}$ با تیتراسیون pH پتاسیومتری اندازه‌گیری شد و با ثابت‌های مربوط مقایسه‌هایی انجام شد. نمودار نتایج $\log K^M_{M(R-DP)}$ و $\mathrm{p}K^H_{H(R-DP)}$ برای ترکیبات دی‌فسفات رسم شد و خط همبستگی[۱] از این نقاط محاسبه شدند، این نتایج نشان می‌دهند که کمپلکس‌های $M(dTDP)^-$ دقیقاً روی خط قرار گرفته‌اند؛ یعنی فلزات دوظرفیتی فقط به گروه فسفات متصل شده‌اند و هیچگونه برهمکنشی میان یون فلزی و قند یا باز نوکلئوزید وجود ندارد. معادله خط همبستگی بدست آمده از رابطه مطرح شده به ما اجازه می‌دهد که با مقدار pK_a هر لیگند دی‌فسفات منواستر تک پروتونه، ثابت‌های پایداری را محاسبه کنیم.

مقدمه

نوکلئوتیدها در بسیاری از واکنش‌های بیولوژیکی شرکت می‌کنند[۱]،[۲]. که عمده این واکنش‌ها با همکاری فلزات یونی صورت می‌گیرد[۳]. بدین جهت ثابت‌های اسیدی و پایداری زیادی و همچنین ثابت‌های ترمودینامیکی برای این نوع کمپلکس‌ها اندازه‌گیری و یا محاسبه شده‌اند[٤] و این اطلاعات در بررسی ساختار حالات جامد کمک زیادی می‌کنند[٥]،[٦]. در نوکلئوزید-۵′-تری فسفات، گروه فسفات در فاصله دورتری نسبت به نوکلئوباز قرار دارند. این قابل فهم است که در اکثر کمپلکس‌های نوکلئوزید-۵′-تری فسفات بررسی شده ثابت اسیدی در محدوده $pK_a = ۶/۵۰ \pm ۰/۰۵$ قرار دارند.

براین اساس، ثابت‌های پایداری این کمپلکس‌ها قابل فهم است؛ به‌طوری که چنانچه فلزات علاوه بر پیوند با گروه فسفات بتوانند با گروه نوکلئوباز نیز پیوند حاصل و یک ماکروکیلیت ایجاد نمایند. یعنی یون فلزی از طرفی با

کلمات کلیدی: نوکلئوتیدها، دی‌فسفات منو استرها، ثابت‌های اسیدی، ثابت‌های پایداری.

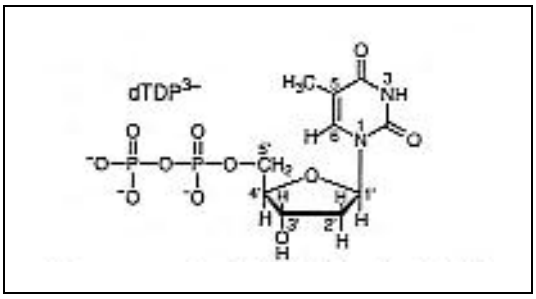
۱. Correlation line

دریافت ۸۵/۰۷/۱۰ پذیرش ۸٦/۹/۱۱

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]

گروه فسفات و از طرف دیگر با یک نیتروژن(عموماً N7) از حلقه باز پورین پیوند حاصل می‌کند. برای دسته نوکلئوزید-۵′- منوفسفات‌ها خط همبستگی به دست آمده و معادلات خطی جهت مقایسه وجود دارد.

برای تعدادی از ترکیبات دی‌فسفات نیز این خط تهیه شده و معادله خطی آن برای فلزات مختلف به دست آمده است[۷]. یک گروه فسفات که به ناحیه انتهای β به یک نوکلئوزید متصل است در بسیاری موارد نیز مانند مشتقات ساده دی‌فسفات عمل می‌کند[۸]. مهم این است که در صورتی که نوکلئوباز با یون فلزی برهمکنش نشان ندهد، ثابت‌های پایداری به دست آمده در محدوده دی‌فسفات‌های ساده قرار می‌گیرد. تیمیدین-۵′-دی‌فسفات $dTDP^{3-}$ در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱. ساختار شیمیایی تیمیدین –۵′- دی‌فسفات در حالت غالب

آزمایش‌ها

مواد و تجهیزات موردنیاز

۱. نمک سدیم dTDP از شرکت Sigma Chemical Co. ،Mo,USA ، St.Louis تهیه شد. میزان فسفات معدنی موجود این ترکیب اندازه‌گیری و معادل ۱/۷% تعیین شد.

۲. Na_2H_2EDTA N,N,N',N'-tetra acetic 1,2-diaminoethane، از شرکت Darmstadt, Merck AG آلمان.

۳. $C_8H_5O_4K$ پتاسیم هیدروژن فتالات، از شرکت Darmstadt, Merck AG آلمان.

۴. HNO_3 ، از شرکت Darmstadt, Merck AG آلمان.

۵. NaOH (تیترازول)، از شرکت Darmstadt, Merck AG آلمان.

۶. نمک‌های نیترات Cd^{2+}, Zn^{2+}, Cu^{2+}, Ni^{2+}, Ca^{2+}, Mn^{2+}, Ba^{2+}, Sr^{2+}, Co^{2+}, Mg^{2+}, Na^{+} (همگی برای آنالیز) از شرکت Darmstadt, Merck AC آلمان که البته غلظت یون فلزی با EDTA دقیقاً تعیین شده است.

همه محلول‌ها با آب دیونیزه شده France, Millipore, Ultrapure و بدون CO_2 ساخته شدند.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]

غلظت محلول‌های NaOH مصرفی آزمایش‌ها با پتاسیم هیدروژن فتالات به طور دقیق اندازه‌گیری شد.

تیتراسیون‌های pH پتاسیومتری : این آزمایش‌ها با دستگاه Potetiograph، Metrohm E53، dosimat E655 و الکترود (NB) 6.0203.100 و 6.0202.100 همراه با محلول‌های بافرpH ۴،۷،۹ مطابق NBS انجام شد. اعداد pHهای خوانده شده از دستگاه مستقیماً برای محاسبات مورد استفاده قرار گرفتند این ثابت‌ها همان ثابت‌های عملی یا Bronsted هستند.

تعیین ثابت‌های اسیدی

ثابت‌های اسیدی $H_2(dTDP)^-$ یعنی $K^H_{H_2(dTDP)}$ و $K^H_{H(dTDP)}$ و $K^H_{(dTDP)}$ با تیتراسیون ۵۰ml محلول آبی HNO_3 ۰/۵۴mM (I =۰/۱M و $NaNO_3$, ۲۵°C) در حضور و عدم لیگند(۰/۳mM) تحت گاز N_2 با محلول NaOH ۰/۰۳M تعیین شد. محاسبات با کامپیوتر IBM با برنامه محاسبه براساس Newton-Gauss انجام شد. برای $H(dTDP)^{2-}$ محدوده pH ۴/۷-۱۰/۴ انتخاب شد که معادل ۲% خنثی‌سازی معادله $H(dTDP)^{2-}$/$dTDP^{3-}$ و حدود ۷۵% خنثی‌سازی معادله $dTDP^{3-}$/$(dTDP\text{-}H)^{4-}$ است. به دلیل پایین بودن میزان فسفات معدنی، در محاسبات وارد نشد. نتایج نهایی براساس اعداد به دست آمده از تیتراسیون حداقل ۲۰ جفت منحنی pH مستقل بود.

تعیین ثابت پایداری

ثابت‌های پایداری $K^M_{M(H;dTDP)}$ و $K^M_{M(dTDP)}$ به‌طوری که M^{2+}: Mg^{2+}, Ca^{2+}, Sr^{2+}, Ba^{2+}، Mn^{2+}, Zn^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Cu^{2+}و Cd^{2+} بود تعیین شد. شرایط همانند پیش بود یعنی۵۰ml محلول آبی HNO_3 ۰/۵۴ mM در حضور و عدم حضور لیگند(۰/۳mM) و تحت N_2 با۱میلی‌لیتر NaOH /۰۳M تیترشد. اما $NaNO_3$ تا حدی با $M(NO_3)_2$ جایگزین شد و(I=0.1 M و $NaNO_3$ و ۲۵°C) نسبتM^{2+}/L به صورت‌های ۱:۱ و ۱:۲ برای تمام سیستم‌ها اعمال شد. در موردSr^{2+} وBa^{2+} ثابت‌های پایداری کوچک بودند و نسبت‌های M^{2+}/L ۱: ۵ و۱۰:۱و۱۵:۱ نیز اعمال شد که نتایج یکسانی را مانند ۱:۱ به دست دادند. این نشان‌گر این مطلب بود که نسبت M^{2+}/L نقش مهمی در تشکیل کمپلکس ایفا نمی‌کند.

برای محاسبه ثابت‌های پایداری از جفت منحنی‌های تیتراسیون، یعنی منحنی بدون لیگند و با لیگند استفاده شد و با برنامه‌ای کامپیوتریCurve-fitting با استفاده از ثابت‌های H^+ و $H_2(dTDP)^-$، $H(dTDP)^{2-}$، $dTDP^{3-}$ ، M^{2+}،$M(H;dTDP)$ و $M(dTDP)^-$ محاسبات صورت گرفت. اعداد به فاصله هر ۰/۱ واحد pH از پائین‌ترین pH تا بالاترین pH جمع‌آوری شد و در جمع‌آوری این اعداد بسیار دقت شد که به محض مشاهده هیدرولیز $M(aq)^+$ اعداد حذف شوند که در این زمینه واکنش مذکور در منحنی فلز بدون لیگند(یعنی با شروع تشکیل

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]

کمپلکس‌های $M(dTDP\text{-}H)^{2-}$) قابل تشخیص بود. درجه تشکیل برای $M(H;dTDP)$ عموماً $\% 5 \leq$ براساس میزان کل لیگند و محدوده خطای محاسبه شده برای $\log K^{M}_{M(H;dTDP)}$ ۰/۰۳ ± واحد log بود.

نتایج و بحث

تمامی تیتراسیون‌های pH پتانسیومتری ($I = 0.1M$,$NaNO_3$, ۲۵°C) که در ادامه نتایج جمع‌آوری شدند با غلظت mM ۰/۳ = [L] بود، به طوری که پدیده خودتجمعی[1] حذف شد؛ یعنی لیگندها به صورت منومر در محلول قرار داشتند.

ثابت‌های اسیدی لیگند پروتونه شده

لیگند $H_2(dTDP)^-$ که حاوی دو پروتون بر روی گروه فسفات است قادر است که مطابق واکنش‌های زیر این پروتون‌ها را از دست بدهد.

$$H_2(dTDP)^- \rightleftharpoons H(dTDP)^{2-} + H^+ \quad (1a)$$

$$K^{H}_{H_2(dTDP)} = [H(dTDP)^{2-}][H^+]/[H_2(dTDP)^-] \quad (1b)$$

$$H(dTDP)^{2-} \rightleftharpoons dTDP^{3-} + H^+ \quad (2a)$$

$$K^{H}_{H(dTDP)} = [dTDP^{3-}][H^+]/[H(dTDP)^{2-}] \quad (2b)$$

همان‌طوری که گفته شد این دو پروتون بر روی گروه فسفات قرار گرفته‌اند: یکی بر روی گروه α و دیگری بر روی گروه β فسفات.

علاوه بر این لیگند $dTDP^{3-}$ قادر است که در یک واکنش بعدی که در محدوده بالای pH قرار دارد یک پروتون دیگر را از گروه حلقه بازی خود جدا کند. این پروتون از نیتروژن N(3) جدا می‌شود که می‌توان این واکنش را به صورت زیر خلاصه کرد.

$$dTDP^{3-} \rightleftharpoons (dTDP\text{–}H)^{4-} + H^+ \quad (3a)$$

$$K^{H}_{dTDP} = \left[(dTDP - H)^{4-}\right]\left[H^+\right]/\left[dTDP^{3-}\right] \quad (3b)$$

ثابت‌های اسیدی اندازه‌گیری شده در جدول ۱ آورده شده است.

مقایسه ویژگی‌های اسید- بازی چند لیگند

اثر دپروتونه شدن (H)N3 در باز تیمیدین در ترکیبات مشابه شناخته شده است.

$$\rho K^{H}_{dThd} = 9.69[9] < \rho K^{H}_{dTMP} = 9.90 \pm 0.03 \simeq$$

$$\rho K^{H}_{dTDP} = 9.93 \pm 0.02(table.1) \simeq \rho K^{H}_{dTTP} = 9.89 \pm 0.03[10]$$

بار روی گروه فسفات در ۰ ، ۲- ، ۳- تا ۴- متغیر است.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]

جدول ۱. منفی لگاریتم ثابت‌های اسیدی قسمت‌های مختلف $dTDP^{3-}$ و تعداد دیگری از نوکلئوتیدها و ترکیبات دی‌فسفات منواستر، اندازه گیری شده با تیتراسیون‌های pH پتانسیومتری (I=0.1 M و $NaNO_3$ و ۲۵°C) در محلول‌های آبی

pK$_a$				اسید
(N3)H	-P(O)$_2^-$-O-P(O)$_2$(OH)$^-$	(N3)H$^+$	-P$_2$(O)$_4$(OH)$_2^-$	
	6.32±0.02		1.32±0.18	$H_2(PhDP)^-$
	6.37±0.09		1.62±0.09	$H_2(MeDP)^-$
9.47±0.02	6.38±0.02		1.26±0.20	$H_2(UDP)^-$
	6.39±0.02	4.45±0.02	1.0±0.2	$H_3(CDP)^{\pm}$
9.93±0.02	6.44±0.01		1.3	$H_2(dTDP)^-$
	6.65±0.16		1.34±0.16	$H_2(BuDP)^-$

ثابت‌های پایداری M^{2+} در کمپلکس‌های dTDP

اعداد تجربی تیتراسیون‌های pH پتاسیومتری دو سیستم M^{2+}/dTDP به‌طوری که M^{2+}: Mg^{2+}، Mn^{2+} Ca^{2+}, Sr^{2+}, Ba^{2+} Zn^{2+} ,Co^{2+} ,Ni^{2+} , Cu^{2+} و Cd^{2+} است. با واکنش‌های ۲، ۳، ۴ و ۵ تعریف می‌شود.

$$M^{2+} + H(dTDP)^{2-} \rightleftharpoons M(H;dTDP) \quad (4a)$$

$$K^{M}_{M(H;dTDP)} = [M(H;dTDP)]/([M^{2+}][H(dTDP)^{2-}]) \quad (4b)$$

$$M^{2+} + dTDP^{3-} \rightleftharpoons M(dTDP)^{-} \quad (5a)$$

$$K^{M}_{M(dTDP)} = [M(dTDP)^{-}]/([M^{2+}][dTDP^{3-}]) \quad (5b)$$

ثابت اسیدی نهایی مطابق این واکنش‌ها تعریف می‌شود.

$$M(H;dTDP) \rightleftharpoons M(dTDP)^{-} + H^{+} \quad (6a)$$

$$K^{H}_{M(H;dTDP)} = [M(dTDP)^{-}][H^{+}]/[M(H;dTDP)] \quad (6b)$$

$$\rho K^{H}_{M(H;dTDP)} = \rho K^{H}_{H(dTDP)} + \log K^{M}_{M(H;dTDP)} - \log K^{M}_{M(dTDP)} \quad (7)$$

نتایج واکنش‌های ۴، ۵ و ۶ برای کمپلکس‌های dTDP و M^{2+} در جدول۲ آورده شده است.

ثابت‌های پایداری در جدول۲ روند عمومی را نشان می‌دهد. پایداری کمپلکس‌ها با یون‌های قلیایی خاکی با افزایش شعاع یونی کاهش می‌یابد. برای یون‌های فلزی دوظرفیتی 3d پایداری کمپلکس‌های یون فلزی - فسفات اغلب سری Irving-wiliams را دنبال نمی‌کنند. روند ثابت‌های پایداری همه لیگندهای دی‌فسفات در جدول ۲ نشان داده شده است که به این صورت خلاصه می‌شود:

$$Ba^{2+} < Sr^{2+} < Ca^{2+} < Mg^{2+} < Ni^{2+} < Co^{2+} < Mn^{2+} < Cu^{2+} > Zn^{2+} < Cd^{2+}$$

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]

سوال این است که رابطه ثابت پایداری و ثابت اسیدی گروه دی‌فسفات به چه شکل است؟ به عبارت دیگر آیا رابطه خطی میان $\log K^{M}_{M(R-DP)}$ و $\rho K^{H}_{H(R-DP)}$ وجود دارد. جواب مثبت است و این مطلب در شکل۲ نشان داده شده است.

جدول ۲: لگاریتم ثابت‌های پایداری کمپلکس‌های $M(dTDP)^-$ معادله (5) برای $dTDP^{3-}$ اندازه گیری شده با تیتراسیون‌های pH پتانسیومتری (I=0.1 M و $NaNO_3$ و ۲۵°C) در محلول‌های آبی.

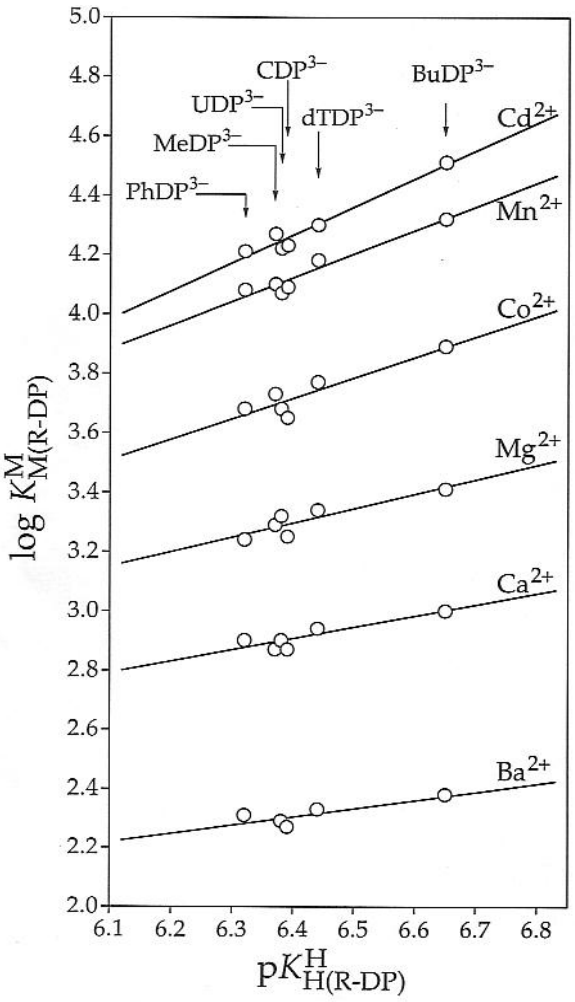
$\log K^{M}_{M(dTDP)}$			
M^{2+}	$dTDP^{3-}$	M^{2+}	$dTDP^{3-}$
Mg^{2+}	3.34±0.06	Co^{2+}	3.77±0.04
Ca^{2+}	2.94±0.04	Ni^{2+}	3.57±0.05
Sr^{2+}	2.40±0.05	Cu^{2+}	5.34±0.05
Ba^{2+}	2.33±0.03	Zn^{2+}	4.15±0.04
Mn^{2+}	4.18±0.03	Cd^{2+}	4.30±0.03

همان‌طوری که مشاهده می‌شود ثابت پایداری به دست آمده برای کمپلکس‌های $M(dTDP)^-$ بر روی خط قرار دارد. این بدین معنی است که یون فلزی فقط از طریق گروه فسفات متصل است و هیچگونه برهمکنش جانبی دیگری ندارد؛ زیرا هرگونه برهمکنش اضافی منجر به افزایش ثابت پایداری شده و به دنبال آن باید نقاط مربوط به کمپلکس‌های $M(dTDP)^-$ بالای خط قرار بگیرند که این مطلب مشاهده نمی‌شود.

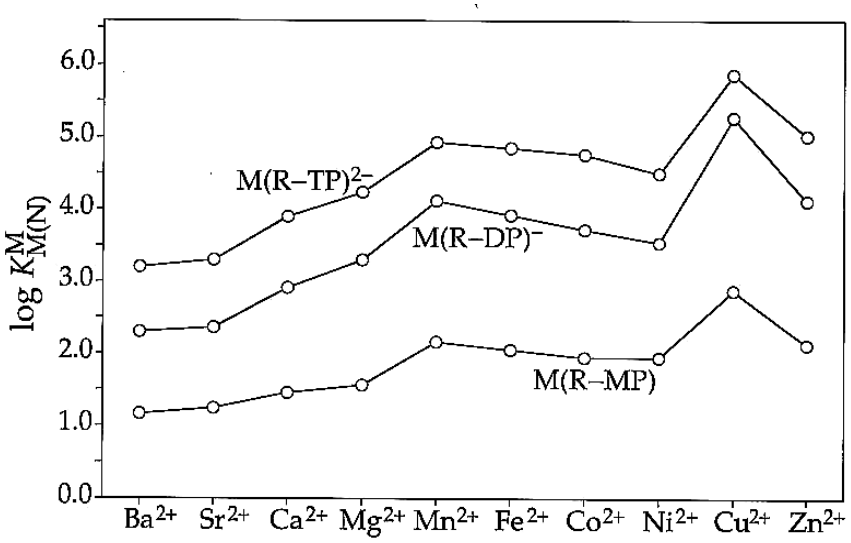
همان‌طوری که می‌بینیم نوکلئوتید $dTDP^{3-}$ همانند ترکیبات دی‌فسفات منواسترهای ساده عمل می‌کند و قسمت نوکلئوباز آن‌ها هیچ تأثیری بر روی ساخت کمپلکس با فلزات دوظرفیتی مطرح شده ندارد. معادلات خطی روابط pK, logK ترکیب dTDP و کمپلکس‌های آن‌ها در شکل۲ دیده می‌شود. بنا بر این می‌توان با داشتن ثابت اسیدی هر مشتقی از ترکیبات دی‌فسفات منواستر به صورت نسبتاً دقیق به ثابت پایداری کمپلکس با یون فلز مورد نظر دست یافت. با این شرط که قسمت R در R-DP هیچگونه اثری در تشکیل کمپلکس نداشته باشد. مثلاً هیچگونه ماکروکیلیتی تشکیل نشود. برای مقایسه با روند و مقدار ثابت‌های پایداری dTDP با دیگر مشتقات آن به صورت منو- و تری فسفات می‌توان از شکل۳ استفاده نمود. در محور افقی یون فلزات دو ظرفیتی و محور عمودی ثابت‌های پایداری آن‌ها آورده شد. همان‌طور که مشاهده می‌شود روند افزایش به شکل آتی است و در مورد هر سه ترکیب منو- ، دی- و تری یکسان است.

$$Ba^{2+} < Sr^{2+} < Ca^{2+} < Mg^{2+} < Ni^{2+} < Co^{2+} < Mn^{2+} < Cu^{2+} > Zn^{2+} < Cd^{2+}$$

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]



شکل۲. رابطه خطی $\log K^{M}_{M(R-DP)}$ و $pK^{H}_{H(R-DP)}$ برای چند فلز دو ظرفیتی برای کمپلکس‌های ۱:۱ تعدادی از ترکیبات دی‌فسفات و ترکیب $dTDP^{3-}$. تمام اعداد نشان داده شده توسط تیتراسیون‌های pH پتانسیومتری در محیط آبی بدست آمده است(I=0.1 M و $NaNO_3$ و ۲۵°C).



شکل ۳. سری Irving-wiliams نشان داده شده برای کمپلکس‌های ساخته شده با فلزات دو ظرفیتی و ترکیبات منو- $(R\text{-}MP)^{2-}$، دی- $(R\text{-}DP)^{3-}$، و تری فسفات $(R\text{-}TP)^{4-}$ ، :تیمیدین(R). این اعداد نشانگر ثابت‌های پایداری این کمپلکس‌ها می‌باشند.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]

منابع

1. H. Sigel; Met. Ions in Biol. Syst. **32**, (1996) 1-814.

2. S. Lippard, J. Berg, J. Lewis; Principle of Bioinorganic Chemistry, Mill Valley, (1994).

3. A.S. mildvan; Magnesium. **6**, (1987) 28-33.

4. R.M. Smith, A.E. Martell; Pure Appl. Chem. **63**, (1991) 1015-1080.

5. K. Aoki; J. Am. Chem. Soc., (1989) 171-246.

6. K. Aoki; Met. Ions in Biol. Syst. **32**, (1996) 91-134.

7. Abstract JCBIC-7: S.A.A. Sajadi, M. Bastian, H. Sigel, J. Inorg. Biochemistry **59** (1995) 139.

8. S. A.A. Sajadi, B. Song, H. Sigel; in press.

9. H. Sigel; Chem. Soc. Rev. **22**, (1993) 255-267.

10. H. Sigel; Met. J. Am. Chem. Soc. **97**, (1995) 3209-3214.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03]