

اکسیداسیون الکتروشیمیایی گوانین در محلولهای آبی با استفاده از ولتامتری چرخه

دکتر عباسعلی رستمی - محمد وکیلی

انستیتوی شیمی - دانشگاه مازندران - بابلسر

همراه بوده و به صورت آزاد یافت می‌شوند (۱).

کاتابولیس پیورین‌ها و مشتقات آنها که به طور بدن صورت می‌گیرد عموماً شامل یک سری وا پیچیده پی در پی از قبیل اکسیداسیون و هیدرولیز می انجام این پدیده‌ها به طور طبیعی در سیستم‌های بیولو حدود زیادی مورد قبول بیولوژیست‌ها بوده ولی مکان واکنشها ناشناخته می‌باشد. بررسی اکسید الکتروشیمیایی پیورین و مشتقات آنها در آزمایشگاه کمک بسیار موثری در روشن کردن مکانیسم اکسید بیولوژیکی این ترکیبات باشد (۳).

اکسیداسیون الکتروشیمیایی گوانین (A) از سال مورد توجه قرار گرفت. در آن سال برای هرست (st) اکسیداسیون این ماده را با استفاده از الکتروشیمی گرافیت، PGE، و در محلول آبی استیک اسید بررسی قرار داد (۴). ولتاموگرام چرخه‌ای حاصله نشان داده شده است. برای هرست در ارائه مکانیسم نمود که گوانین ابتدا در یک فرآیند $2H^+ - 2e^-$ گوانین (B) اکسید شده و سپس این ترکیب با واسط دی‌ال (C) به محصولات تبدیل می‌شود چرخه‌ای گوانین با غلظت ۱ mM / ۰ در محلول با قدرت یونی ۰/۵ و در pH = ۷ که در سال ۱۹۸۱ هرست و همکارانش (۵) ارائه شد نیز مشابه

چکیده:

اکسیداسیون الکتروشیمیایی گوانین در محیط بافر فسفات آبی با قدرت یونی ۰/۵ در pHهای مختلف و در دمای $25^{\circ}C$ با استفاده از الکتروود پیرولیتیک گرافیت (PGE) مورد مطالعه قرار گرفت. پتانسیل و شدت جریان پیکهای اکسیدی مشاهده شده با استفاده از ولتامتری چرخه‌ای (CV) بستگی به pH محیط داشته و مطالعه تاثیر سرعت روبش بر اولین پیک اکسیدی مبین غیر برگشت پذیر بودن اکسیداسیون گوانین در محیط آبی می‌باشد. نتایج حاصل از این پژوهش، منجر به ارائه شواهد جدیدی برای مکانیسم اکسیداسیون گوانین در محلولهای آبی شده است.

واژه‌های کلیدی:

گوانین (۲- آمینو- ۶- اکسی پیورین)، اکسیداسیون الکتروشیمیایی

KEY WORDS: Guanine (2- amino- 6- oxy Purine), Electrochemical oxidation

مقدمه:

پیورین‌ها از جمله ترکیبات مهمی هستند که در بدن هر موجود زنده‌ای وجود دارند و معمولاً با مولکولهای بزرگ

بخش تجربی:

مواد به کار رفته

گوانین ۹۸٪ خالص از شرکت مرک، نمکهای فسفات و اسید فسفریک با خلوص بالا از شرکت فلوکا، فروسیانید پتاسیم ۹۹/۵٪ خالص از شرکت فلوکا و الکتروگرافیت پیرولیتیک از شرکت پیفیزر.

دستگاهها:

دستگاههای بکاررفته عبارتند از:

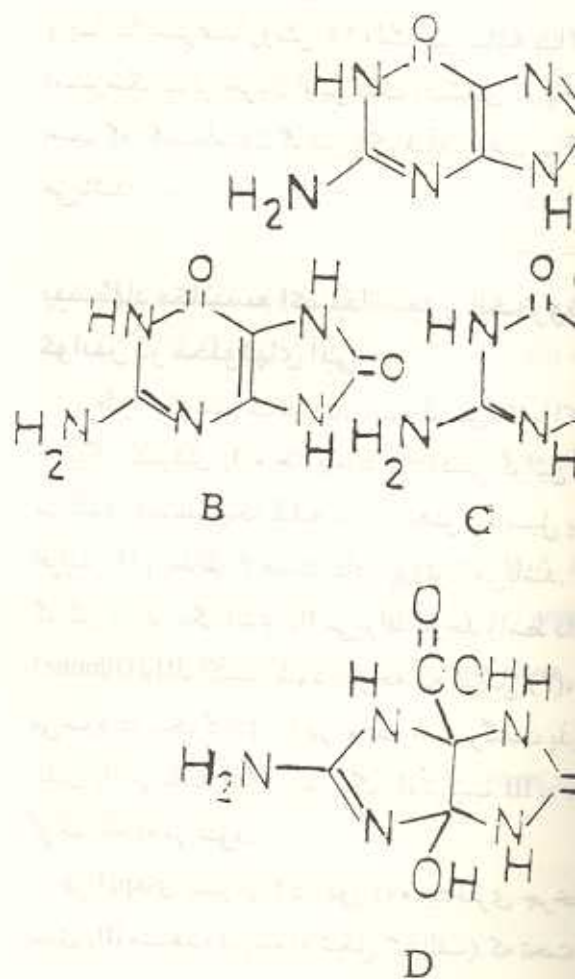
پتانسیواستات- گالوانواستات مدل PJT 35-2 از شرکت تاکوسل، دستگاه تولید کننده سیگنال مثلثی و مستطیلی مدل GSTP4 از شرکت تاکوسل، ثبات X-Y از کمپانی یا کوگاوا و اسلیسکوپ مدل 1715A از شرکت هیولت پکارد (200 MHZ).

برای مطالعه اکسیداسیون الکتروشیمیایی گوانین توسط ولتامتری چرخه‌ای، از سل سه الکترودی (شکل ۲) استفاده شده است. در کلیه آزمایشات از الکترود اشباع شده کالومل، SCE، به عنوان الکترود مرجع، سیم پلاتین به عنوان الکترود کمکی و میکروالکترود پیرولیتیک گرافیت (PGE)، به عنوان الکترود کار استفاده شده است.

میکرو الکترود PGE را براساس روش درای هرست والونگ (Elving) (۷) تهیه و مساحت آن با استفاده از رفتار الکتروشیمیایی $K_4Fe(CN)_6$ ، 4.4 mm^2 تعیین گردید (۸). قبل از انجام هر آزمایش باید سطح میکروالکترود تمیز گردد، برای این منظور معمولاً از کاغذ سمباده سلیکون کاربید ۶۰۰ گریت (grite) استفاده می‌نمایند. امادر این پژوهش علاوه بر کاغذ سمباده فوق از کاغذ سمباده ۲۴۰ گریت که دارای سطح خشن تری نسبت به کاغذ سمباده ۶۰۰ گریت است، نیز استفاده شد. با استفاده از کاغذ سمباده ۲۴۰ گریت، پیکهای اکسیدی جدیدی مشاهده گردید که پتانسیل ظهور و شدت آنها بستگی به pH محیط داشت.

۱۹۸۲، گوپال (Goyal) نیز اکسیداسیون گوانین را در محلول بافر فسفات با قدرت یونی pH= مورد بررسی قرار داده است که ولتاموگرام ضل مشابه شکل (۱) می‌باشد (۶). گوپال در ارائه سنهاد نموده است که گوانین ابتدا به ۸- اکسی شده و سپس این ترکیب از حد واسط D می‌گذرد تجربی برای تشکیل این حد واسط ارائه نموده

وهش، باتوجه به پیکهای جدید مشاهده شده در رجه‌ای گوانین، و محصولات نهائی شناخته شده هرست و گوپال (۶ و ۴) مکانیسم جدیدی برای الکتروشیمیایی گوانین در محلولهای آبی ارائه



لازم به ذکر است که برای تهیه کلیه محلولها در این پروژه از آب سه بار تقطیر شده استفاده گردید.

بحث و بررسی نتایج:

مطالعات ولتامتری چرخه‌ای:

ولتامتری چرخه‌ای محلول ۲mM گوانین در pHهای مختلف از نمکهای بافر فسفات با قدرت یونی $\mu=0/5$ که بر طبق روش کریستین (Christian) و پوردی (Purdy) تهیه شده بود (۹)، مورد مطالعه قرار گرفت. روابط خطی بین پتانسیل اولین پیک اکسیدی (E_{pa1}) و پیکهای احیائی II'_c و II_c بر حسب pH (شکل ۳) در محدوده ۹-۲ pH بر طبق معادلات زیر وجود دارند.

$$E_{pa1} = 1.235 - 0.075 \text{ pH} \quad (1)$$

$$E_p II_c = 0.11 + 0.069 \text{ pH} \quad (2)$$

$$E_p II'_c = 0.39 + 0.052 \text{ pH} \quad (3)$$

شکل (۳-الف و ب) ولتاموگرام چرخه‌ای گوانین را به ترتیب در pHهای ۳ و ۷ نشان می‌دهد. مقایسه این دو ولتاموگرام نشان می‌دهد که:

۱- پتانسیل اولین پیک اکسیدی (E_{pa1}) گوانین تابع pH محیط بوده و بر طبق یک رابطه خطی با افزایش pH محیط بافری، کاهش یافته و اکسیداسیون آن با از دست دادن پروتون همراه می‌باشد.

۲- پتانسیل دومین پیک اکسیدی نیز تابع pH محیط بوده با افزایش pH کاهش یافته ولی شدت جریان آن زیاد می‌شود (الف و ب شکل ۳ را مقایسه کنید).

۳- در pHهای کمتر از ۴، در دور دوم ولتامتری چرخه‌ای پیک اکسیدی III_a مشاهده می‌شود. که شدت آن در حین اعمال پتانسیل ثابت زیاد شده و سپس کم و به تدریج ناپدید می‌شود.

ظاهر شدن پیکهای I'_a و III_a را می‌توان مربوط به واسطه‌های ایجاد شده در pHهای مختلف در اثر اکسیداسیون پیک I_a دانست که تاکنون گزارش نشده است. و علت ظهور

آنها را می‌توان بخاطر کاربرد کاغذ سمباده ۲۴۰ گریت دانست زیرا که استفاده از کاغذ سمباده خشن، باعث خشن‌تر شدن سطح الکتروود کار شده و در نتیجه سطح زیادتری برای و پایداری حد واسطه‌های الکترواکتیو ایجاد می‌نماید (۱۱). تاثیر غلظت گوانین بر روی شدت جریان اولین پیک اکسیدی در شکل (۴) نشان داده شده است. کاهش شدت منحنی با افزایش غلظت مربوط به تمایل جذب قوی گوانین به سطح الکتروود می‌باشد (۱۲). این جذب باعث مشاهده دو پیک اکسیدی در ولتاموگرام چرخه‌ای گوانین بر روی الکتروود خشن می‌شود. مشاهده دومین پیک اکسیدی در ولتاموگرام اکسیداسیون الکتروشیمیایی اوریک اسید نیز به جذب اوریک اسید روی الکتروود خشن نسبت داده شده است (۱۳). مطالعه تاثیر جذر سرعت روبش، $v^1/2$ ، در محدوده ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی ولت بر ثانیه با استفاده از ثبت و یا با سرعت روبش ۱۰ ولت بر ثانیه با استفاده از اسیلوسکوپ بر جریان اولین پیک اکسیدی (E_{pa1}) نشان می‌دهد که اکسیداسیون گوانین یک فرآیند غیر برگشت پذیر می‌باشد.

پیشنهاد مکانیسم اکسیداسیون الکتروشیمیایی گوانین در محلولهای آبی:

بر طبق مکانیسم شکل (۵)، ابتدا گوانین (I) با اکسید I_a در پیک اکسیدی I_a به حد واسطه ۸- اکسی گوانین (II) تبدیل می‌شود. همانطوریکه گفته شد کاهش پتانسیل پیک I_a با افزایش pH بخاطر از دست دادن پروتون می‌باشد. ۸- اکسی گوانین در اثر پیک I_a آندی II_a می‌تواند به حد واسطه II_a (Diimine)، III_a ، اکسید شود با توجه به شکل (۳)، II_a می‌شود که پیک کاتدی I_c در حالت شبه برگشت پذیر با I_a آندی II_a می‌باشد لذا در اثر پیک I_c ، ترکیب III_a به I_a گوانین احیاء می‌شود.

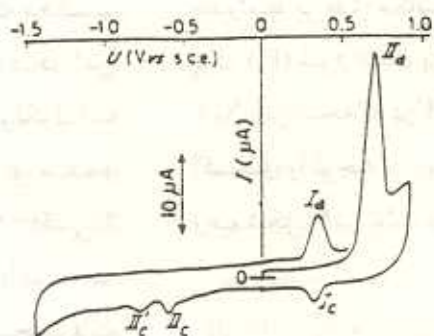
در pHهای کمتر از ۴ در دور دوم ولتامتری چرخه‌ای پیک III_a مشاهده می‌شود (شکل ۳-الف). که تحت

اصلی در pHهای کمتر از ۴ باشد. وجود دومین پیک آندی (I_a) را برطبق مراجع (۱۱، ۱۳-۱۵) می‌توان مربوط به ترکیب حدواسط XVI دانست که این حدواسط بر طبق مکانیسم شکل (۷) می‌تواند باعث ظهور پیک (I_a) شود انتقال پروتون در تبدیل حد واسط XVI به XIX، این نتیجه که در pHهای بالا، افزایش شدت دومین پیک اکسیدی را توجیه می‌نماید. این مطلب از مقایسه قسمت الف و ب شکل ۳ نیز تأیید می‌شود.

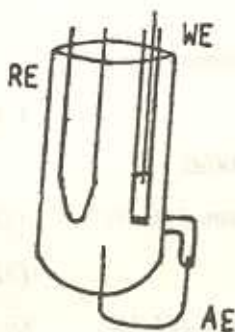
حدواسط ۲-اکسی ۴ و ۵-دی هیدروکسی ثیب VIII شکل (۶) به پارابانیک اسید X اکسید می‌توان از پارابانیک اسید بعنوان یکی از pHهای کوچکتر از ۴ نام برد که مکانیسم حصول در شکل (۶) مشاهده می‌شود. در این پادای ابتدا دای - ایمین با جذب دو مولکول آب، به ترکیب ۴ و ۵-دی ال (۷) تبدیل شده و با عبور از حد واسط VI باعث ایجاد ۲-اکسی ۴ روکسی ایمیدازول (VIII) می‌شود. با توجه به نیدین (IX) نیز می‌تواند یکی از محصولات

[8] Rostami, A. A., Dryhurst, G., *J. Electroanal. Chem.*, 223, 143 (1987).
 [9] Christian, G. D., Purdy, W. C., *J. Electroanal. Chem.*, 3, 363 (1962).
 [10] Owens, J. L., Marsh, H. A., Dryhurst, G., *J. Electroanal. Chem.*, 91, 231 (1978).
 [11] Tyagi, S. K., Dryhurst, G., *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 13, 343 (1984).
 [12] Laviron, E., *J. Electroanal. Chem.* 52, 355 (1974).
 [13] Chen, T. R., Dryhurst, G., *J. Electroanal. Chem.* 144, 191 (1983).
 [14] Chen, T. R., Dryhurst, G., *J. Electroanal. Chem.* 154, 107 (1983).
 [15] Chen, T. R., Dryhurst, G., *J. Electroanal. Chem.* 177, 149 (1984).

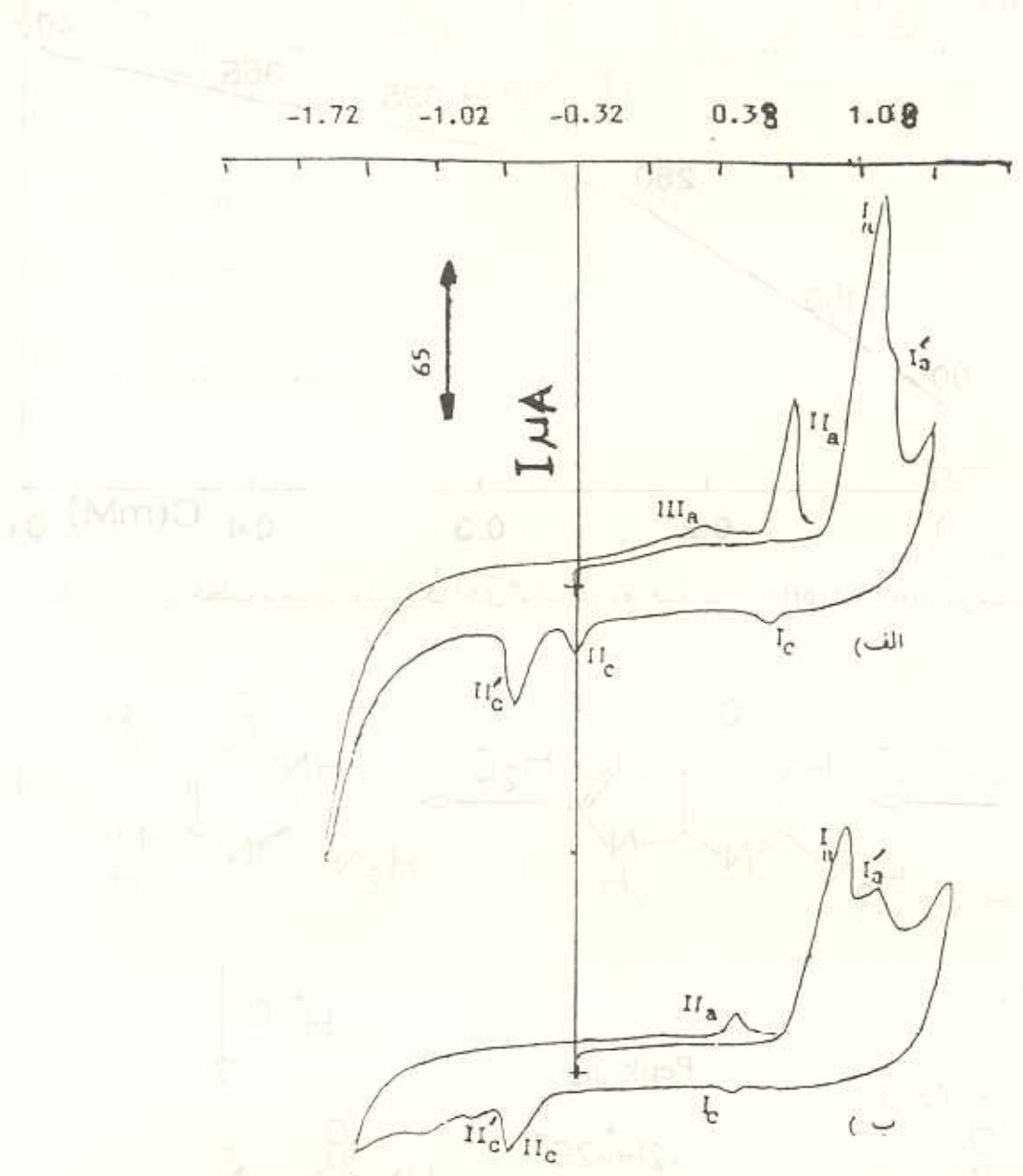
[1] Dryhurst, G., *"Electrochemistry of Biological Compounds"*, Academic Press, New York, Chap. 3, (1977).
 تین - پیتر آمیز - ویکتور. رادول - داریل ک. گرانر. "مروزی (پرو)". مترجمین: دکتر مصباح الدین بلاغی، دکتر محسن سماعیل کوچکی شلمانی. انتشارات واحد فوق برنامه دفتر مرکزی جهاد دانشگاهی، پائیز ۱۳۶۵، فصل ۲۶.
 [3] Hart, J. P., *"Electroanalysis of Biological Compounds"*, Chap.2 (1991).
 [4] Dryhurst, G., Pace, G., *J. Electrochem. Soc.* 117, 12599 (1970).
 [5] Brajeter-Toth, A., Goyal, R. N., Wrona, M., Dryhurst, G., *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 8, 413 (1982).
 [6] Goyal, R. N., Dryhurst, G., *J. Electroanal. Chem.* 131, 91 (1982).
 [7] Dryhurst, G., Elving, J. P., *J. Electrochem. Soc.* 113, 1014 (1968).



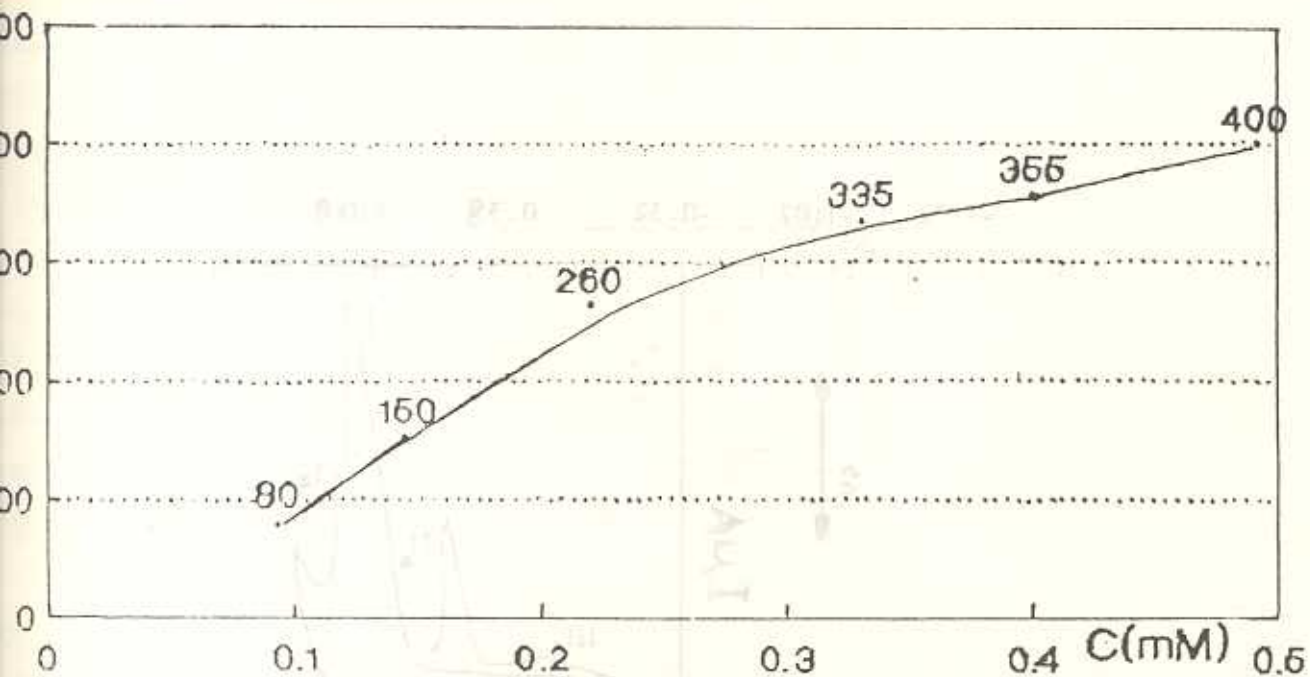
شکل ۱- ولتاموگرام چرخه‌ای گوانین اشباع در محلول 1M استیک اسید با سرعت روبش 200 mV s^{-1} .
(اقتباس از مرجع ۴)



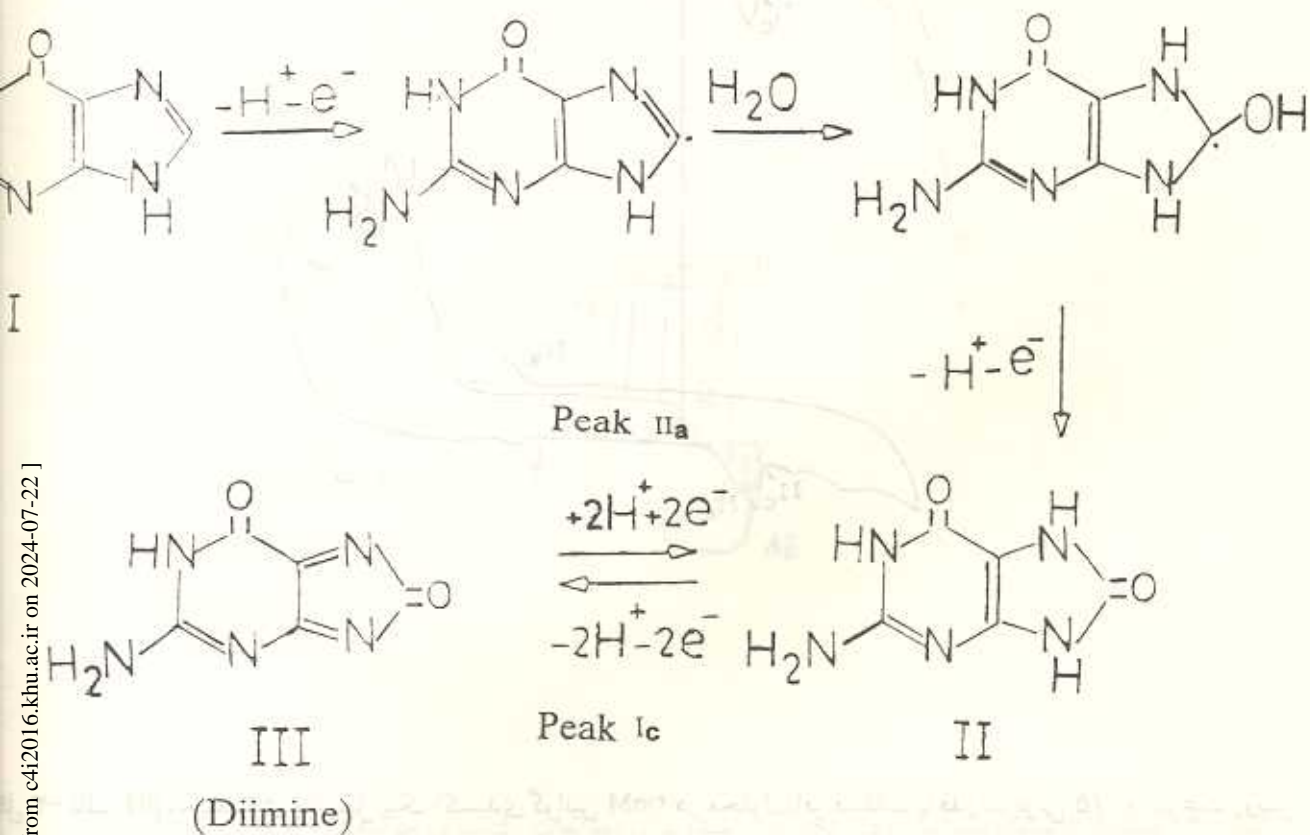
شکل ۲- شمایی از سلول سه الکترودی بکار برده شده برای مطالعات ولتامتری چرخه‌ای.
الکترود مرجع: RE الکترود کار: WE الکترود کمکی: AE



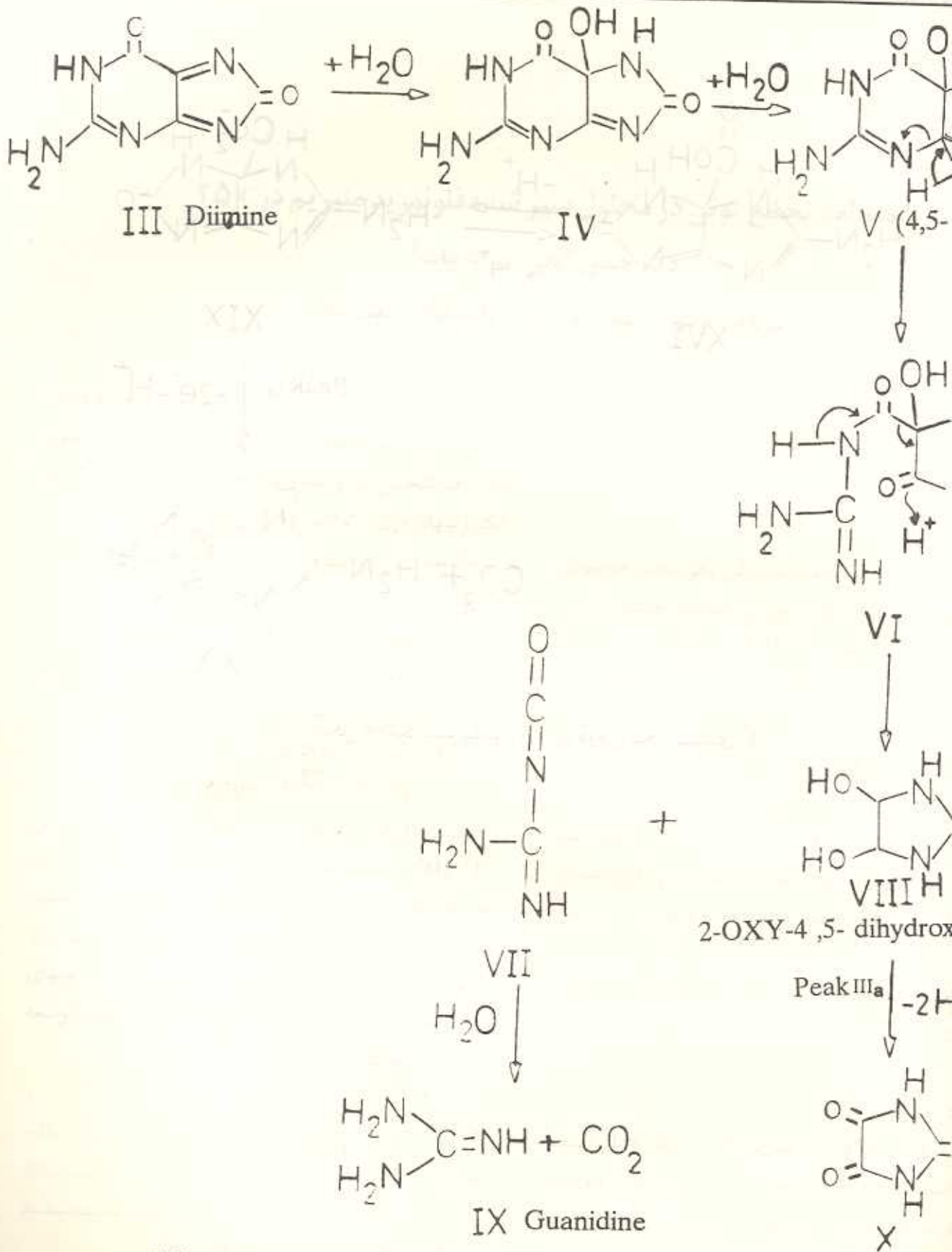
- تاثیر pH محیط روی پتانسیل یک اکسیدی گوانین ۲mM در محلول بافر فسفات با قدرت یونی ۰/۵ و سرعت روبش ۲۰۰mV/s (الف) در pH=۳ (ب) در pH=۷. پتانسیل نقطه شروع (+) ۰/۳۲۷ نسبت به SCE می باشد.



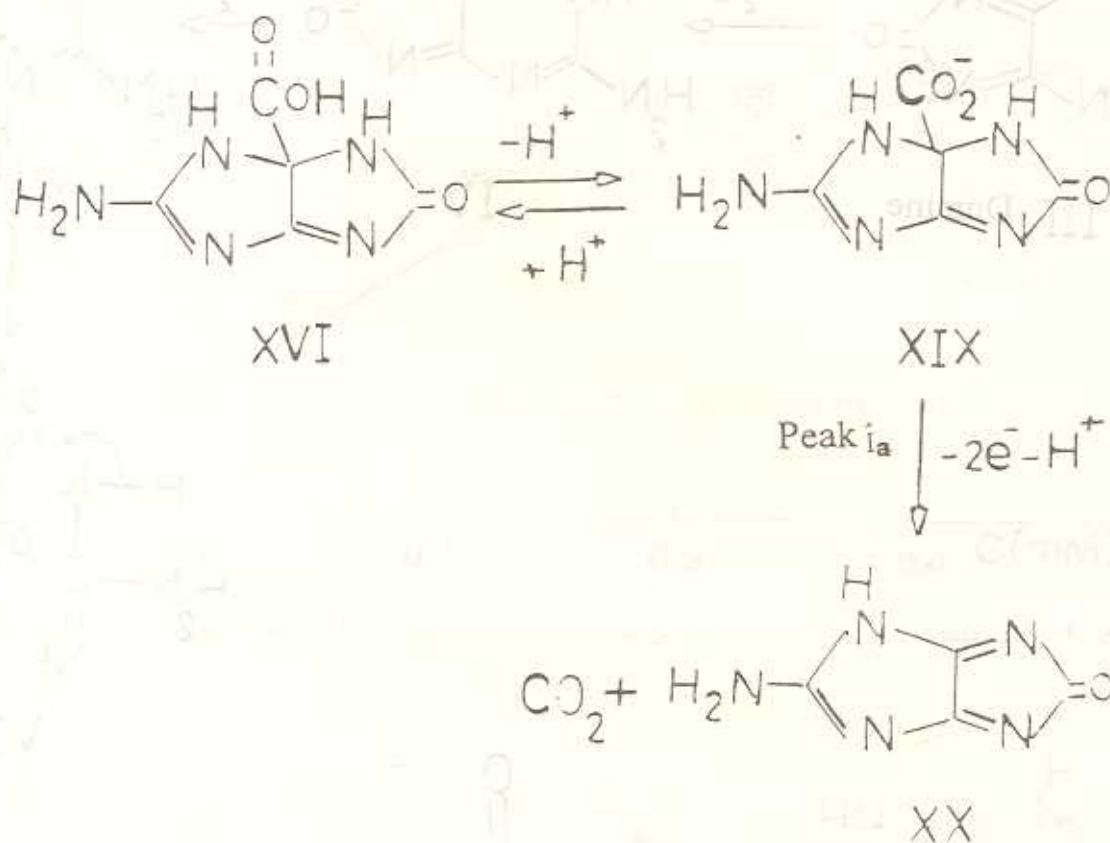
شکل ۴- تاثیر غلظت بر جریان اولین پیک آندی گوانین در بافر فسفات (μ = 0.5, pH = 2) با سرعت رویش 200 mVs⁻¹



شکل ۵-



شکل ۶- نحوه حصول محصولات گوانیدین (IX) و پارابانیک اسید (X) از حد واسطه دای-ایمین (III)



شکل ۷- مکانیسم پیشنهادی برای دومین پیک اکسیدی I_a