

اکسیداسیون الکتروشیمیایی گوانین در محلولهای آبی با استفاده از ولتاژمتری چرخه

دکتر عباسعلی رستمی - محمد وکیلی

انستیتوی شیمی - دانشگاه مازندران - بابلسر

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

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

اکسیداسیون الکتروشیمیایی گوانین (A) از سال ۱۹۵۸ مورد توجه قرار گرفت. در آن سال برای هرست (B) اکسیداسیون این ماده را با استفاده از الکتروکاتود پیرولین، و در محلول آبی استیک اسید (C) بررسی قرار داد (۴). ولتاموگرام چرخه‌ای حاصله در آن نشان داده شده است. برای هرست در ارائه مکانیسم اکسیداسیون گوانین ابتدا در یک فرآیند $2H^+ - 2e^-$ گوانین (B) اکسید شده و سپس این ترکیب با غلظت واسطه‌ای (C) به محصولات تبدیل می‌شود. ولتاموگرام چرخه‌ای گوانین با غلظت $1 mM$ در محلول با قدرت یونی 0.5 و در $pH = 7$ که در سال ۱۹۸۱ هرست و همکارانش (۵) ارائه شد نیز مشابه است.

چکیده:

اکسیداسیون الکتروشیمیایی گوانین در محیط بافر فسفات آبی با قدرت یونی 0.5 در pH های مختلف و در دمای $25^\circ C$ با استفاده از الکتروکاتود پیرولینیک گرافیت (PGE) مورد مطالعه قرار گرفت. پتانسیل و شدت جریان پیکهای اکسیدی مشاهده شده با استفاده از ولتاژمتری 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 الکترودگرافیت پیرولیتیک از شرکت پیفیزر.

دستگاهها:

دستگاههای بکاررفته عبارتند از:

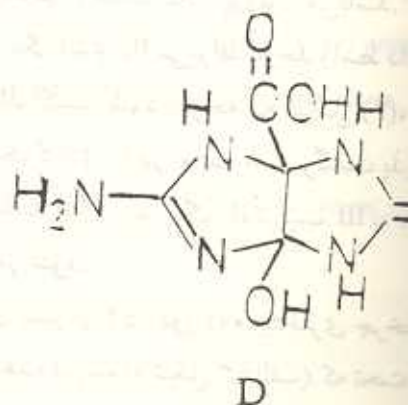
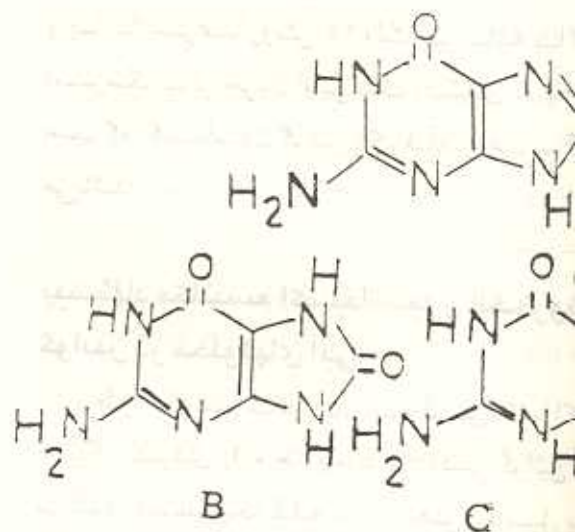
پتانسیواستات-گالوانواستات مدل PJT 35-2 از شرکت تاکوسل، دستگاه تولیدکننده سیگنال مثلثی و مستطیلی مدل GSTP4 از شرکت تاکوسل، ثبات X-Y از کمپانی یا کوگوا و اسلیسکوپ مدل 1715A از شرکت هیولت پاکارد (200 MHZ).

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.

میکروالکترود PGE را براساس روش درای هرست والینگ (Elving) (۷) تهیه و مساحت آن با استفاده از رفتارالکتروشیمیایی $K_4Fe(CN)_6$ ، 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، گویال (Goyal) نیز اکسیداسیون گوانین را در محلول بافر فسفات با قدرت یونی pH= مورد بررسی قرار داده است که ولتاموگرام حاصل مشابه شکل (۱) می‌باشد (۶). گویال 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 ننموده

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



D

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 pH های 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 pH ۲-۹ بر طبق معادلات زیر وجود دارند:

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

$$E_{pII_c} = 0.11 + 0.069 \text{ pH} \quad (2)$$

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

شکل (۳-الف و ب) ولتاموگرام چرخه‌ای گوانین را به ترتیب در pH های 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 pH های 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 pH های 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 زیاده‌تری 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 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 اکسیداسیون الکتروشیمیایی اوریک اسید نیز به جذب اوریک اسید روی الکتروود خشن نسبت داده شده است (۱۳). مطالعه تاثیر جذر سرعت روبش، $v^{\frac{1}{2}}$ ، در محدوده ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی ولت بر ثانیه با استفاده از ثبات 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 در پیک اکسیدی I_a به حد واسطه ۸- اکسی گوانین (II) تبدیل می‌شود. همانطوریکه گفته شد کاهش پتانسیل با افزایش pH بخاطر از دست دادن پروتون می‌باشد. ۸- اکسی گوانین در اثر پیک آندی II_a می‌تواند به حد واسطه دای امین (Diimine)، III_a ، اکسید شود با توجه به شکل (۳)، III_a می‌شود که پیک کاتدی I_a در حالت شبه برگشت پذیر با آندی II_a می‌باشد لذا در اثر پیک I_a ترکیب III_a به ۸- اکسی گوانین احیاء می‌شود.

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

اصلی در pHهای کمتر از ۴ باشد.

وجود دومین پیک آندی (I_a') را بر طبق 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- دی هیدروکسی 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 - پیتو آمیز - ویکتورو. رادول - داریل ک. گرانر. "مروزی (پرو)". مترجمین: دکتر مصباح الدین بلاغی، دکتر محسن سماعیل کوچکی شلمانی. انتشارات واحد فوق برنامه فتر مرکزی جهاد دانشگاهی، پائیز ۱۳۶۵، فصل ۲۶.

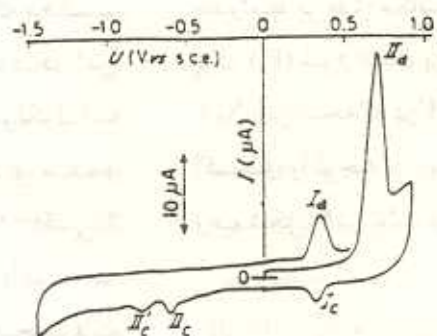
[3] Hart, J. P., "Electroanalysis of Biological Compounds", Chap. 2 (1991).

[4] Dryhurst, G., Pace, G., *J. Electrochem. Soc.* 117, 1259 (1970).

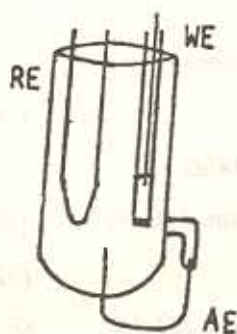
[5] Brajeter-Toth, A., Goyal, R. N., Wrona, M., *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 8, 413 (1982).

[6] Goyal, R. N., Dryhurst, G., *J. Electroanal. Chem.* 91 (1982).

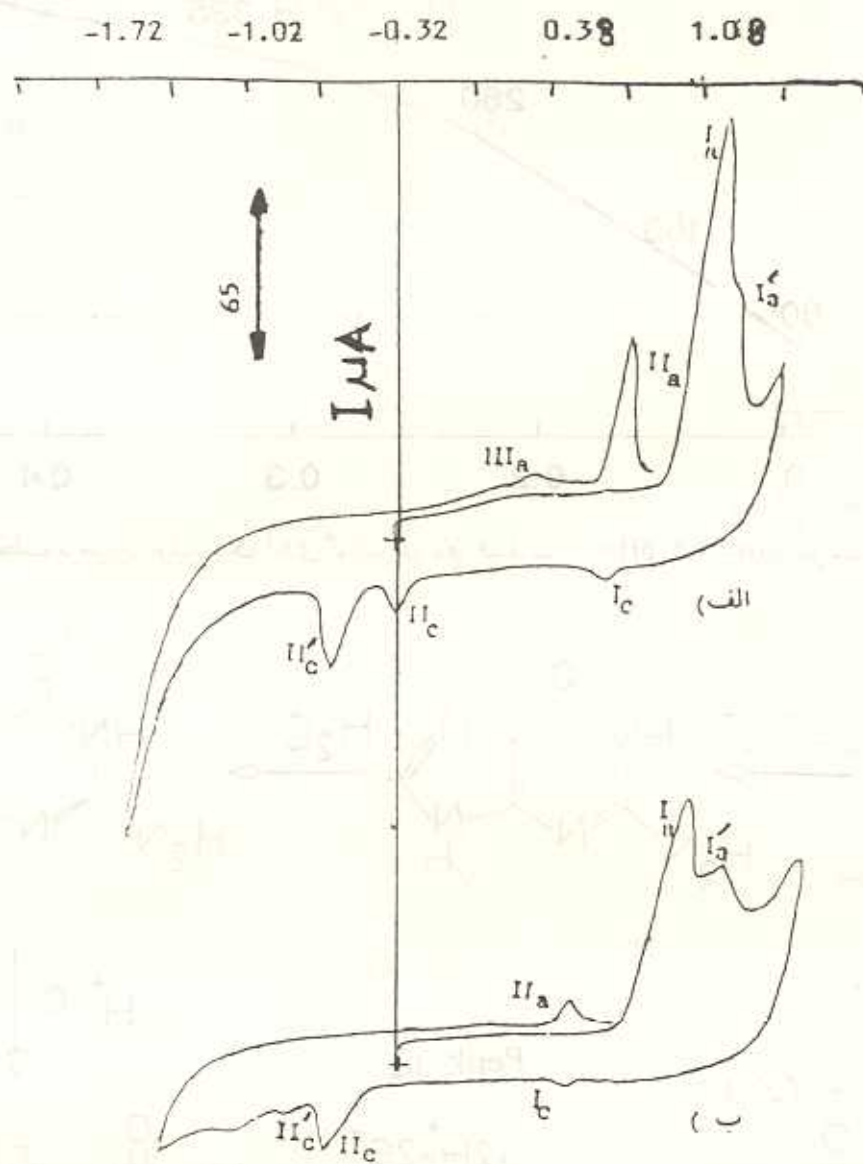
[7] Dryhurst, G., Elving, J. P., *J. Electrochem. Soc.* 115, 1014 (1968).



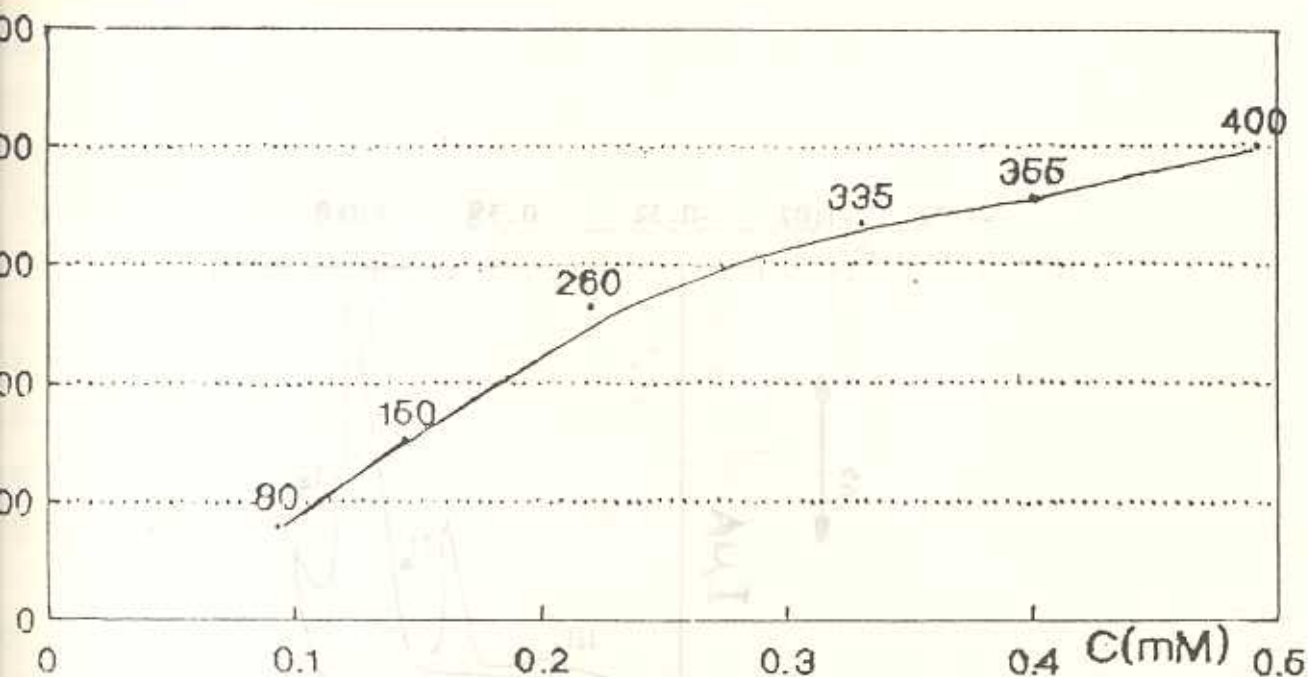
شکل ۱- ولتاموگرام چرخه‌ای گوانین اشباع در محلول 1M استیک اسید با سرعت روبش 200 mV s^{-1} .
(اقتباس از مرجع ۴)



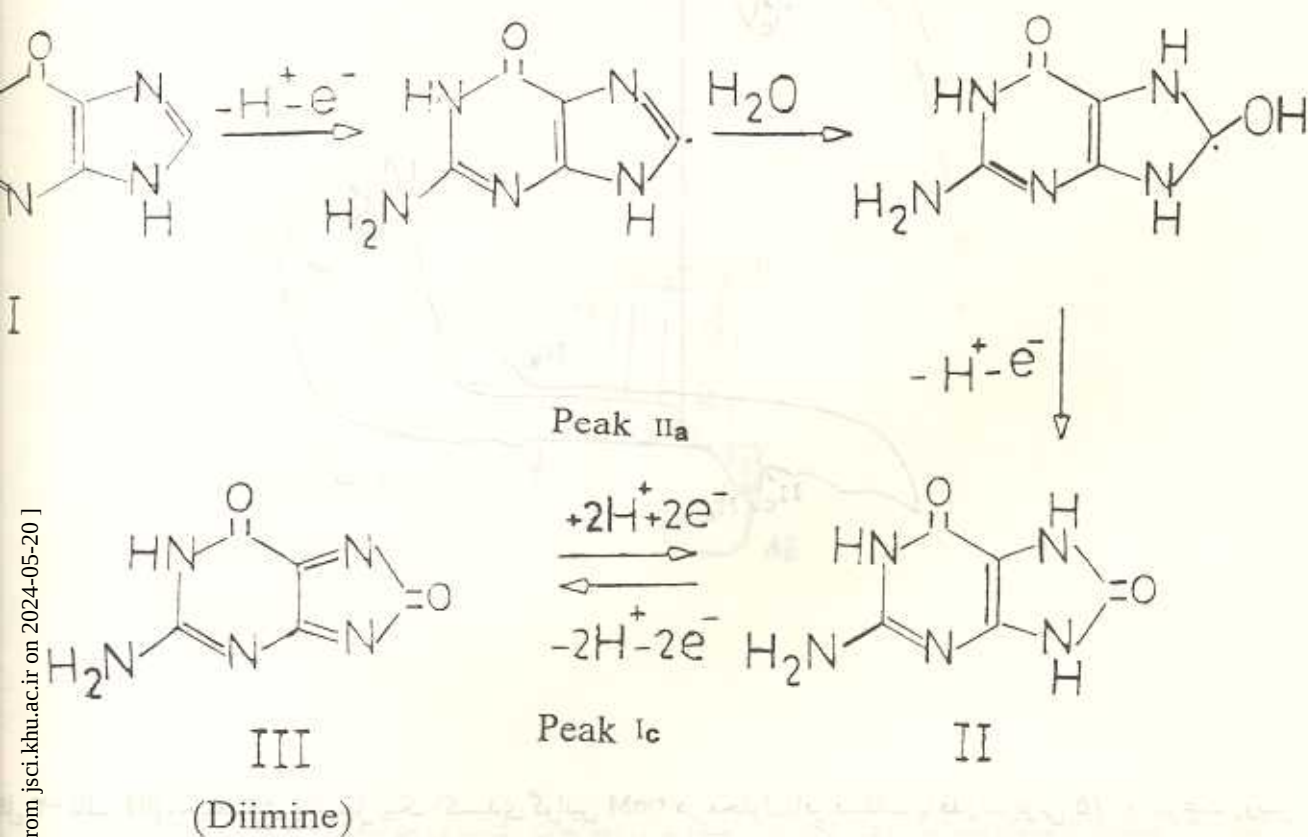
شکل ۲- شمایی از سلول سه الکترودی بکار برده شده برای مطالعات ولتامتری چرخه‌ای.
الکترود مرجع: RE الکترود کار: WE الکترود کمکی: AE



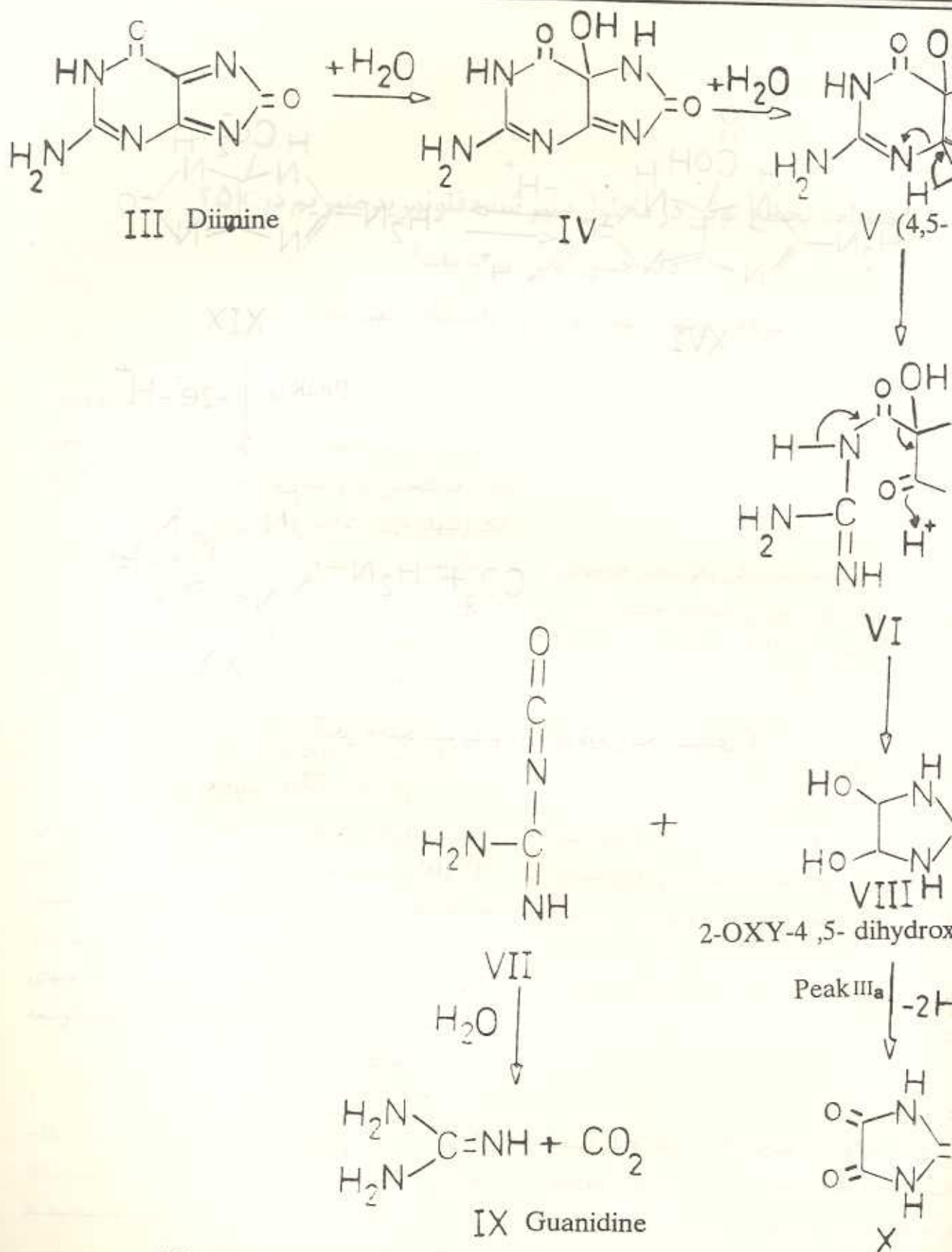
تأثیر pH محیط روی پتانسیل یک اکسیدی گوانین ۲mM در محلول بافر فسفات با قدرت یونی ۰/۵ و سرعت روبش ۲۰۰mV/s (الف) در pH=۳ (ب) در pH=۷. پتانسیل نقطه شروع (+) ۳۲۷/۰ نسبت به SCE می‌باشد.



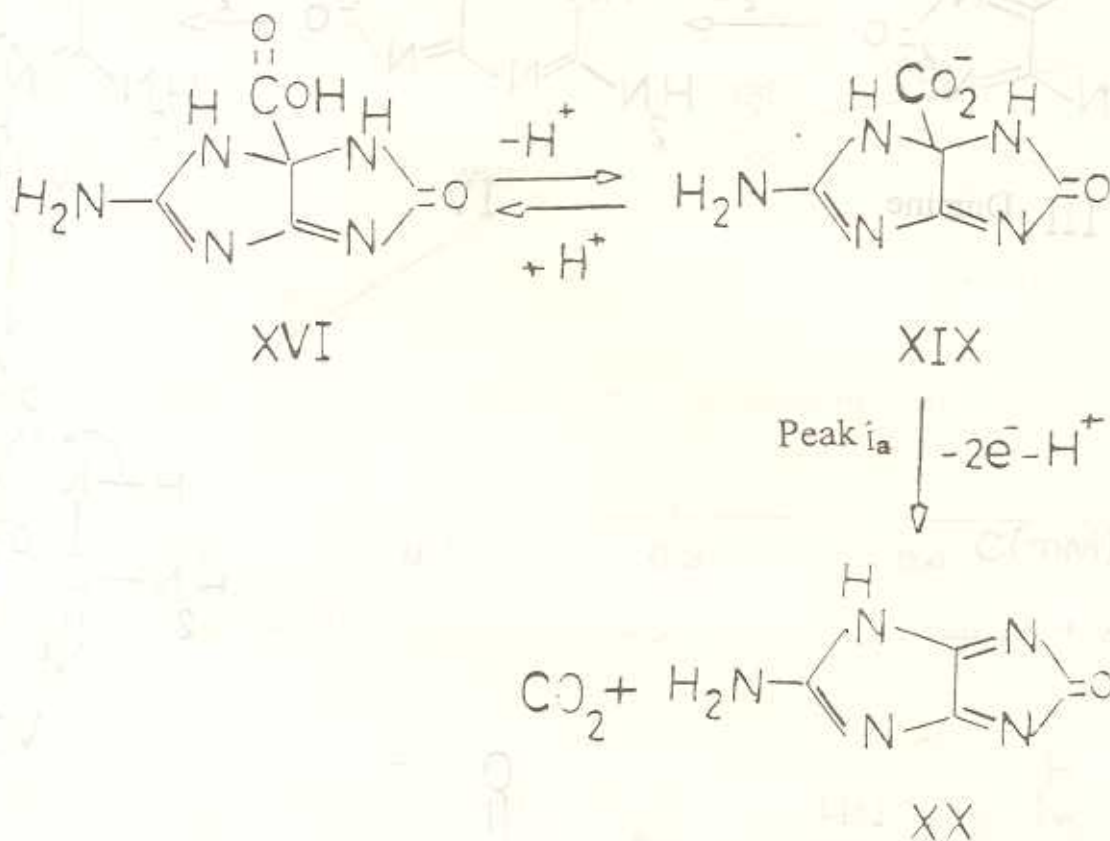
شکل ۴- تاثیر غلظت بر جریان اولین پیک آندی گوانین در بافر فسفات ($\mu = 0.5$, $\text{pH} = 2$) با سرعت رویش 200 mVs^{-1}



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