



دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر
فصلنامه‌ی کاربرد شیمی در محیط زیست

سال سوم، شماره‌ی ۱۲
پاییز ۱۳۹۱، صفحات ۸-۱

مطالعه کمپلکس فلزات تالیوم و پتاسیم با ترکیب آلی متوترکسات با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی UV, FT-IR

بهنام اسدزاده

گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، اهر، ایران

b.asadzadeh62@yahoo.com

سعیده ابراهیمی اصل

دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، اهر، ایران

Ebrahimi.nano@yahoo.com

اسماعیل وصالی

دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه، میانه، ایران

vessally@yahoo.com

چکیده

در این تحقیق برهم‌کنش‌های یون‌های فلزی (K^+ - Tl^+) با متوترکسات مورد بررسی قرار گرفته است. از طیف‌سنجی زیرقرمز (FT-IR) برای تعیین محل‌های اتصال فلز به لیگاندها و از طیف‌سنجی UV برای تعیین مقدار ثابت پیوند استفاده شده است. مقدار ثابت پیوند K، برای کمپلکس‌های یاد شده که نشان‌دهنده توانایی پیوند بین فلز و لیگاند می‌باشد، به ترتیب برابر است با:

$$K (MTX - Tl) = 1.95 \times 10^5 M^{-1} \text{ و } K (MTX - K) = 2.54 \times 10^4 M^{-1}$$

با استفاده از طیف‌سنجی FT-IR مشخص گردید که محل مناسب برای اتصال یون‌های تالیوم با متوترکسات موقعیت‌های 90 و $33N$ می‌باشد. هم‌چنین مشخص گردید که محل مناسب برای اتصال یون‌های پتاسیم با متوترکسات موقعیت $10N$ می‌باشد و در موقعیت $18O$ برهم‌کنش غیرمستقیم وجود دارد.

کلید واژه‌ها: متوترکسات، لیگاند، طیف‌سنجی UV، FT-IR.

مقدمه

بررسی برهم کنش‌های ترکیب آلی متوتروکسات با فلزات پتاسیم و تالیم که در سیستم‌های بیولوژیکی بدن اهمیت زیادی دارند و بررسی خواص فیزیکی و دارویی متوتروکسات به عنوان داروی ضد سرطان با این فلزات و تشخیص ثابت پایداری و بررسی جایگاه‌های اتصال این یون‌ها با عوامل حلقه بر روی مستقیم یا غیر مستقیم بودن پیوند در این تحقیق مطالعه می‌گردد.

متوتروکسات: 4-Amino-4-deoxy-10-methylpteroyl-*l*-glutamic نمونه اولیه داروی آنتاگونیست سیتوتوکسیک فولات‌ها است که به عنوان عامل سرکوب کننده سیستم ایمنی در پیوند عضو، در درمان برخی از بیماری‌های خود ایمنی و در درمان آسم شدید نیز استفاده می‌شود. و می‌تواند به طور معمول در نمونه‌های بیولوژیکی توسط تعدادی از روش‌های مختلف تحلیلی، که در میان روش کروماتوگرافی و ایمنی آنزیمی است اندازه گیری شود. متوتروکسات یک داروی سیتوتوکسیک است، که از ۱۹۴۰ مورد استفاده قرار گرفته است. MTX، یک آنتی‌نئوپلاستیک است که به عنوان آنتی متابولیت فولیک اسید و تداخل با تشکیل DNA، RNA، و پروتئین عمل می‌کند. هدف اصلی آن هیدروفولات ردوکتاز است، که مهار سنتز DNA جدید با محدود کردن تولید تری فسفات دی اکسی پیریمیدین و نوکلئوتیدهای پورین، منجر به آرایش غلط یوراسیل، داخل DNA می‌شود [۴]، [۵]، [۶].

MTX ساختاری همگن از اسید فولیک، به طور گسترده‌ای به عنوان یک داروی شیمی درمانی در درمان سرطان‌های مختلف و بیماری‌های التهابی استفاده می‌شود. با این حال، اثرات دارو نه تنها در سلول‌های سرطانی، بلکه به سرعت در سلول‌های در حال تکثیر، به خصوص در مخاط دستگاه گوارش و سلول‌های مغز استخوان ظاهر می‌شود. عوارض جانبی شدید درمان با MTX اغلب به: موکوزیت، تهوع، استفراغ، و اسهال محدود می‌شود. آسیب روده یا التهاب روده، یکی از عوارض عمده مسمومیت با MTX است و

۲-۲ مراحل انجام آزمایش با استفاده از طیف

گیری UV و FT-IR

نتیجتا در سندرم سوء جذب شیمی درمانی بیماران اخلاص ایجاد می‌کند [۲]، [۳].

۲- روش‌های تجربی

داروی متوتروکسات از شرکت سانتا کروز کانادا به مقدار ۱۰۰ میلی گرم خریداری شد و طیف‌گیری توسط دستگاه IR-FT مدل مدل ۸۷۰ ساخت شرکت Nicolet در دانشگاه علوم تحقیقات تهران انجام یافت و از اسپکتروفتومتر UV-Vis دانشگاه آزاد اهر استفاده شد.

۲-۱ تهیه محلول‌های آزمایشگاهی

قبل از شروع آزمایش همه لوله‌ها، بالن‌های ژوژه و... شسته شد به گونه‌ای که هیچ گونه آثار آلی در آن‌ها موجود نباشد. برای این منظور از محلول اسید کلریدریک ۳۷٪ استفاده کردیم ابتدا محلول ۰/۱ مولار از این محلول تهیه کرده، سپس تمام وسایل را اسید شویی می‌کنیم. بعد با آب مقطر آن‌ها را می‌شویم و در آون با دمای C ۱۰۰ قرار می‌دهیم تا کاملاً خشک شوند.

۲-۱-۱ تهیه محلول متوتروکسات % ۰/۰۱ w/v / ۰/۰۱ تالیم

کلرید و پتاسیم کلرید

برای تهیه این محلول ابتدا محلول استوک آن یعنی w/v ۰/۰۱ را تهیه می‌کنیم. برای این منظور ۰/۰۱g از متوتروکسات و مقدار ۰/۰۷۴۵۶ گرم از پتاسیم کلرید و مقدار ۰/۰۴۷۹۶ گرم از تالیوم کلرید را وزن کرده و در آب دیونیزه حل نموده، در بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتری به حجم می‌رسانیم. سپس برای تهیه محلول % ۰/۰۰۱ w/v از متوتروکسات مقدار ۱cc از آن را برداشته و در بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتری به حجم می‌رسانیم. که در نهایت محلول % ۰/۰۰۱ w/v متوتروکسات حاصل می‌شود. غلظت این محلول ۰/۰۲۲ میلی مولار است. به این روش تمامی محلول‌ها را تهیه می‌کنیم.

$$\text{CVM}_w = m \quad (۱-۲) \text{ رابطه}$$

m: جرم مورد نیاز از ماده بر حسب گرم،

C: غلظت مولی بر حسب میلی مولار،

M_w: جرم مولی بر حسب گرم بر مول،

V: حجم محلول بر حسب لیتر

در طیف‌سنجی FT-IR، ابتدا سه طیف متفاوت از متوتروکسات گرفته شد و سپس با طیف‌های کمپلکس‌های

(A0) و متوترکسات برهم کنش شده با یون‌های فلزی، غلظت یون‌های شرکت کننده در برهم کنش بدست می‌آید. به کمک محاسبات فوق، ثابت تشکیل برهم کنش‌ها بدست می‌آید.

نتایج نسبت [برهم کنش فلز-متوترکسات]/۱، در مطالعات ما به عنوان تابعی از [یون فلزی آزاد]/۱، تقریباً به طور متناسب افزایش می‌یابد و بنابراین ثابت تشکیل کل K برای برهم کنش‌های یون‌های فلزی با متوترکسات به ترتیب زیر محاسبه می‌شود:

$$K (\text{MTX-K}) = 2.54 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$$

$$K (\text{MTX-TI}) = 1.95 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$$

ثابت‌های پیوند محاسبه شده، برهم کنش ضعیف‌تری را برای پتاسیم در مقایسه با تالیوم نشان می‌دهد.

فلزی تالیوم و پتاسیم مقایسه شد. در طیف‌سنجی UV، جذب متوترکسات و نیز کمپلکس‌های فلزی تالیوم و پتاسیم با این ماده اندازه گرفته شد.

طیف FT-IR اطلاعاتی را در مورد ساختمان شیمیایی یک مولکول، در اختیار ما می‌گذارد. مثلاً، هر جذبی که در ناحیه $150 \pm 3000 \text{ cm}^{-1}$ طیف قرار داشته باشد، نشان دهنده وجود اتصال C-H در مولکول است و جذبی که در ناحیه $1700 \pm 100 \text{ cm}^{-1}$ مشاهده شود معمولاً مربوط به پیوند گروه کربونیل C=O در مولکول است [۱].

ثابت تشکیل برهم کنش متوترکسات با یون‌های K^+ و TI^+ تعیین ثابت پیوند با استفاده از طیف‌سنجی UV صورت می‌گیرد.

ثابت تشکیل برای این فلزات، از نسبت عرض از مبدا به شیب خط بدست می‌آید. از تفاضل جذب متوترکسات آزاد $L = \text{غلظت اولیه فلز آزاد در نمونه (برهم کنش)}$

$A = \text{جذب خوانده شده نمونه (برهم کنش)}$

$A0 = \text{جذب MTX خالص (0.022)}$

$A0 - A = \text{تفاوت جذب برهم کنش و MTX}$

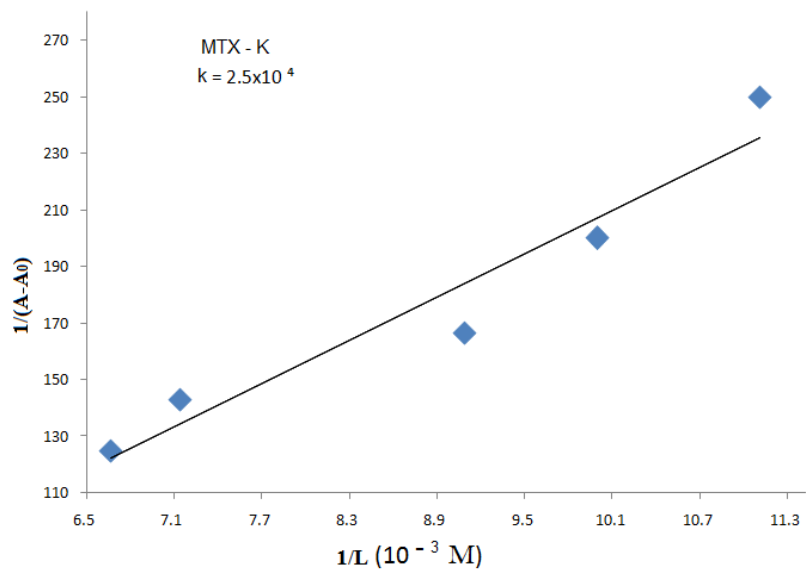
$\lambda_{\text{Max}} = 302 \text{ nm}$

جدول ۱- داده‌های UV برای برهم کنش متوترکسات - تالیوم

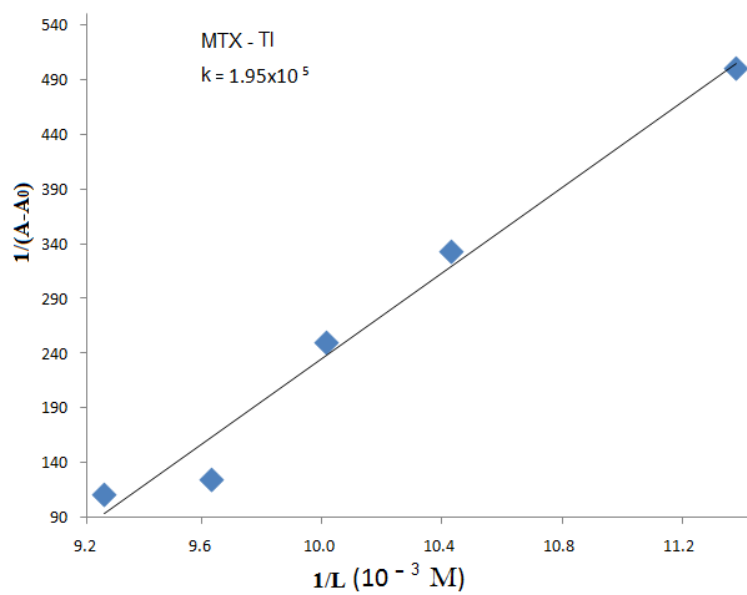
L (mM)	A	A0	1/L	1/(A0-A)
0.088	0.205	0.207	۱۱/۳۶	۵۰۰/۰۰
0.096	0.204	0.207	۱۰/۴۲	۳۳۳/۳۳
0.100	0.203	0.207	۱۰/۰۰	۲۵۰/۰۰
0.104	0.199	0.207	۹/۶۲	۱۲۵/۰۰
0.108	0.198	0.207	۹/۲۶	۱۱۱/۱۱

جدول ۲- داده‌های UV برای برهم کنش متوترکسات - پتاسیم

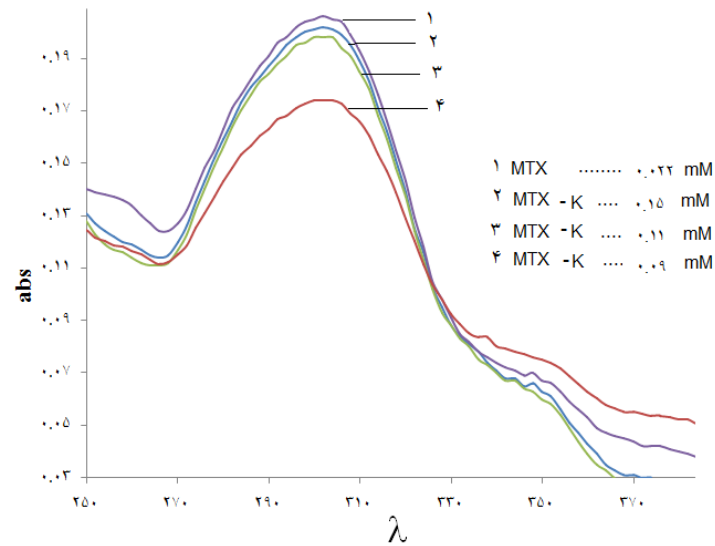
L (mM)	A	A0	1/L	1/(A0-A)
0.09	0.203	0.207	11.11	250.00
0.10	0.202	0.207	10.00	200.00
0.11	0.201	0.207	9.09	166.67
0.14	0.200	0.207	۷/۱۴	۱۴۲/۸۶
0.15	0.199	0.207	۶/۶۷	۱۲۵/۰۰



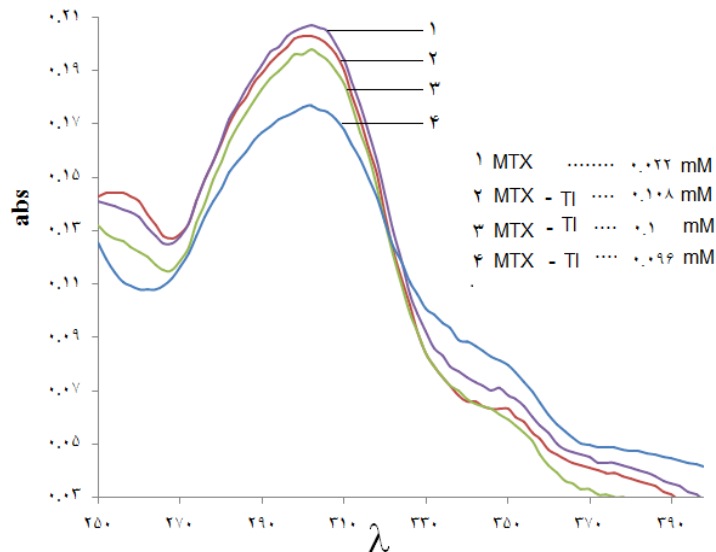
نمودار ۱: ثابت تشکیل برهم کنش متوترکسات - پتاسیم



نمودار ۲: ثابت تشکیل برهم کنش متوترکسات - تالیوم



نمودار ۳: طیف UV-VIS متوترکسات و برهم کنش متوترکسات - پتاسیم با غلظت‌های متفاوت



نمودار ۴: طیف UV-VIS متوترکسات و برهم کنش متوترکسات - تالیوم با غلظت‌های متفاوت

برهم کنش متوترکسات و پتاسیم در دو غلظت، ۰/۵۵۶ و ۱ میلی مولار و هم چنین طیف متوترکسات آزاد در شکل ۳-۳۲ نشان داده شده است. در طیف متوترکسات ارتعاش کششی کربونیل اسید کربوکسیلیک در 1643 cm^{-1} مشاهده می شود. در غلظت پایین کاتیون (۰/۵۵۶mM) این نوار به 1641 cm^{-1} جابجا شده، و شدت این نوار تغییری نشان نمی دهد. تغییرات مشاهده شده می تواند به برهم کنش مستقیم و یا غیرمستقیم فلز با گروه اسید کربوکسیلیک مربوط باشد.

۲-۳ طیف‌های FT-IR برهم کنش متوترکسات با تالیوم و پتاسیم

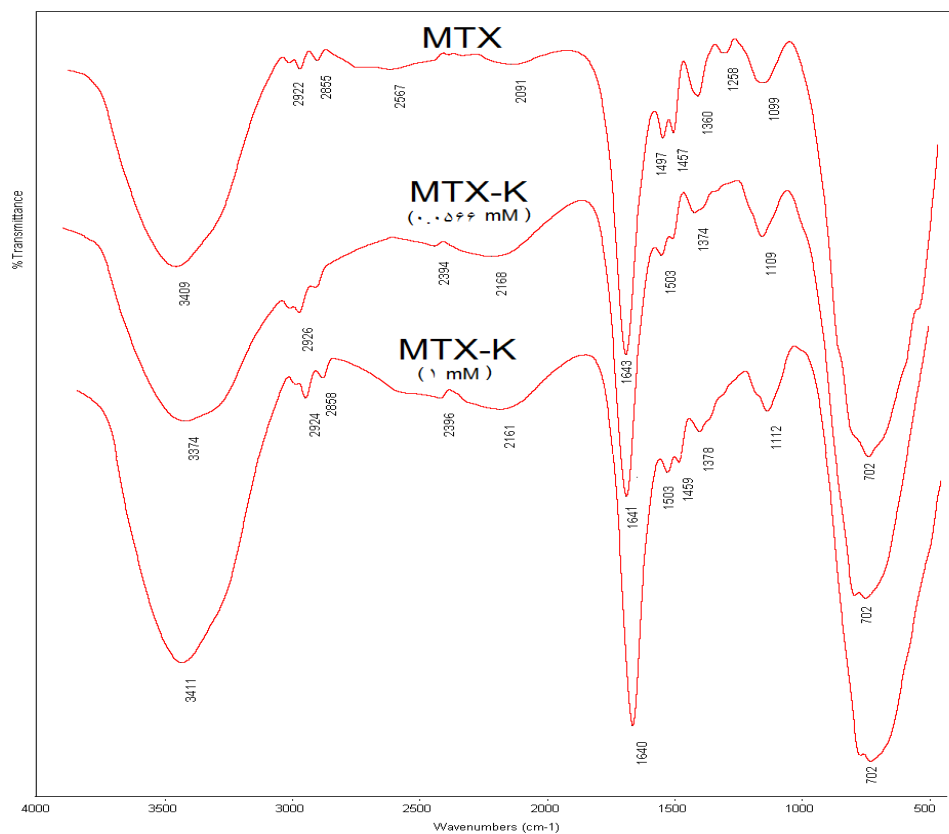
نتایج مطالعات مادون قرمز متوترکسات نشان داد که نوار جذبی قوی در 1643 cm^{-1} به ارتعاشات کششی $\text{C}=\text{O}$ مربوط است. هم چنین نوارهای جذبی N-H و O-H در cm^{-1} 3409 ظاهر می شوند. که به گروه‌های آمیدی و الکی مربوط است.

۱-۲-۳ طیف‌های FT-IR برهم کنش پتاسیم - متوترکسات

شده می‌تواند به برهم‌کنش مستقیم و یا غیرمستقیم فلز با کربونیل گروه آمیدی در 180 cm^{-1} مربوط باشد.

طیفی مشاهده شده، به برهم‌کنش مستقیم پتاسیم با گروه آمیدی گلوتامات در 10N مربوط است. که با نتایج تئوری همسویی نشان می‌دهد.

درغلظت بالای کاتیون (1 mM) ارتعاش کششی C=O به سمت فرکانس پایین تر در 1640 cm^{-1} جابجا می‌شود. و شدت این نوار کمی افزایش می‌یابد. این تغییرات مشاهده هم‌چنین طیف ارتعاشی گروه‌های آمیدی گلوتامات و گروه آمین حلقه پتریدین در 3409 cm^{-1} مشاهده می‌شود. این نوارها در برهم‌کنش متوترکسات- پتاسیم، درغلظت پایین 0.0566 mM میلی مولار، به 3374 cm^{-1} جابجا می‌شود. این تغییر طیفی مشاهده شده به برهم‌کنش مستقیم فلز با نیتروژن درغلظت بالاتر از 1 میلی مولار، این نوار جذبی به 3411 cm^{-1} جابجا شده، و شدت آن نیز افزایش می‌یابد. تغییرات

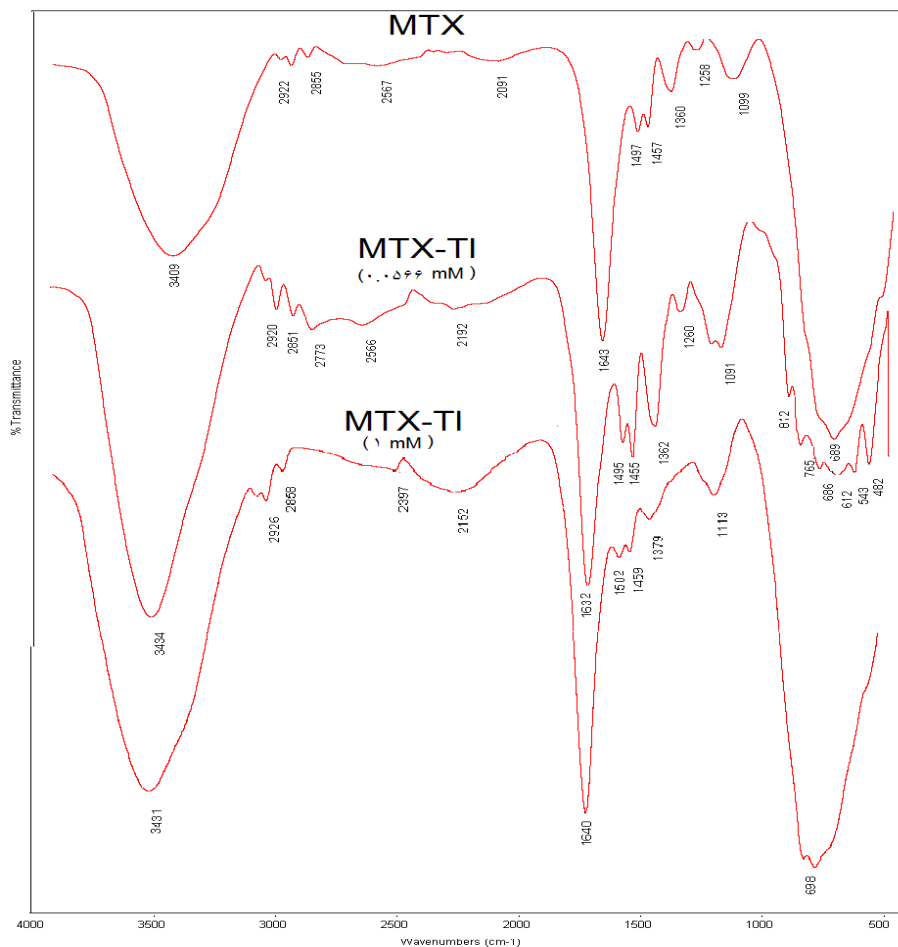


نمودار ۵: طیف FT-IR متوترکسات و برهم‌کنش با یون فلزی پتاسیم

۲-۲-۳ طیف های FT-IR برهم کنش تالیوم - متوترکسات

برهم کنش تالیوم با متوترکسات در دو غلظت ۰/۵۵۶ و ۱ میلی مولار و همچنین طیف متوترکسات آزاد در شکل ۳- نشان داده شده است. در طیف متوترکسات ارتعاش کششی کربونیل اسید کربوکسیلیک در 1643 cm^{-1} مشاهده می شود. در غلظت پایین کاتیون (۰/۵۵۶mM) این نوار به 1640 cm^{-1} جابجا شده، و شدت این نوار تغییری نشان نمی دهد. تغییرات مشاهده شده می تواند به برهم کنش مستقیم و یا غیرمستقیم فلز با گروه اسید کربوکسیلیک مربوط باشد. در غلظت بالای کاتیون (۱ mM)، ارتعاش کششی C=O به سمت فرکانس پایین تر در 1632 cm^{-1} جابجا می شود. این

تغییرات مشاهده شده می تواند به برهم کنش مستقیم فلز با گروه اسید کربوکسیلیک 90 مربوط باشد. همچنین طیف ارتعاشی گروه های آمیدی گلوتامات و گروه آمین حلقه پتریدین در 3409 cm^{-1} مشاهده می شود. این نوارها در برهم کنش متوترکسات - تالیوم در غلظت پایین ۰/۵۵۶ میلی مولار، به 3434 cm^{-1} جابجا می شود. و شدت آن نیز به طور قابل ملاحظه ای افزایش می یابد. این تغییر طیفی مشاهده شده به برهم کنش مستقیم فلز با نیتروژن آمیدی گلوتامات مربوط است. در غلظت بالاتر ۱ میلی مولار این نوار جذبی به 3431 cm^{-1} جابجا شده، و شدت آن نیز افزایش می یابد. تغییرات طیفی مشاهده شده به برهم کنش مستقیم تالیوم با گروه آمینی حلقه پتریدین در 33N مربوط است. که با نتایج تئوری هم سویی نشان می دهد.



نمودار ۶: طیف FTIR متوترکسات و برهم کنش با یون فلزی تالیوم

۴- نتایج

۱- ثابت تشکیل برهم کنش متوتروکسات با یونهای K^+ و Tl^+ با استفاده از طیف سنجی UV محاسبه شد. مقدار ثابت پیوند K ، برای برهم کنش‌های یاد شده، نشان دهنده توانایی پیوند بین فلز و لیگاند می‌باشد، به ترتیب برابر با $K(MTX - Tl) = 1.95 \times 10^5$ و $K(MTX - K) = 2.54 \times 10^4 M^{-1}$ است.

۲- نتایج مطالعات مادون قرمز متوتروکسات نشان داد که نوار جذبی قوی در 1643 cm^{-1} ، به ارتعاشات کششی $C=O$ مربوط است. هم‌چنین نوارهای جذبی $N-H$ و $O-H$ در 3409 cm^{-1} ظاهر می‌شوند. که به گروه‌های آمیدی و الکی مربوط است.

۳- با استفاده از طیف سنجی FT-IR مشخص گردید که محل مناسب برای اتصال یون‌های تالیوم با متوتروکسات موقعیت‌های 90 و $33N$ می‌باشد. هم‌چنین مشخص گردید که محل مناسب برای اتصال یون‌های پتاسیم با متوتروکسات موقعیت $10N$ می‌باشد و در موقعیت 180 برهم کنش غیرمستقیم وجود دارد.

منابع

- ۱- پاویا، دل، لمپن، گک. ترجمه: موثق، بر.، ۱۳۶۸، «نگرشی بر طیف سنجی»، انتشارات علمی وفنی، ص ۱۷.
- 2- Annelies, E. van Ede, Roland, F.J.M.; Laan, Henk, J. B.; Ronney, A.; De Abreu, L. B.A.; van, d.P.; 1998. **Methotrexate in rheumatoid arthritis: An update with focus on mechanisms involved in toxicity**. Volume 27. Issue 5. Pages 277-292.
- 3- Armin. S.; Wolfgang, L.G.; 1994. **Low-dose methotrexate in rheumatic diseases—Efficacy, side effects, and risk factors for side effects**. Volume 23. Issue 5. Pages 310-327.
- 4- Johnston, A.; Gudjonsson, J.E.; Sigmundsdottir, H.; Runar, L.B.; Valdimarsson. H.; 2005. **"The anti-inflammatory action of methotrexate is not mediated by lymphocyte apoptosis, but by the suppression of activation and adhesion molecules"**. Clinical Immunology 114 (2): 154–63.
- 5- Rajagopalan, P.T; Ravi, Z.Z.; McCourt, L.; Dwyer, M.; Benkovic, S.J.; Hammes, G.G.; 2002. **"Interaction of dihydrofolate reductase with methotrexate: Ensemble and single-molecule kinetics"**. Proceedings of the National Academy of Sciences 99 (21): 13481–6.
- 6- Scheinfeld, N.; 2006. **"Three cases of toxic skin eruptions associated with methotrexate and a compilation of methotrexate-induced skin eruptions"**. Dermatology online journal 12 (7): 15.