



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

دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر  
فصلنامه‌ی کاربرد شیمی در محیط زیست

## مطالعه کمپلکس فلزات تالیوم و پتاسیم با ترکیب آلی متوتروکسات 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 برهم کنش های یون‌های فلزی ( $Tl^+ - K^+$ ) با متوتروکسات مورد بررسی قرار گرفته است. از طیف سنجی زیرقرمز (FT-IR) برای تعیین محل‌های اتصال فلز به لیگاندها و از طیف سنجی UV برای تعیین مقدار ثابت پیوند استفاده شده است. مقدار ثابت پیوند K، برای کمپلکس‌های یاد شده که نشان دهنده 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 طیف سنجی FT-IR مشخص گردید که محل مناسب برای اتصال یون‌های تالیوم با متوتروکسات موقعیت های  $9_0$  و  $33_N$  می‌باشد. هم‌چنین مشخص گردید که محل مناسب برای اتصال یون‌های پتاسیم با متوتروکسات موقعیت  $10_N$  می‌باشد و در موقعیت  $18_0$  برهم کنش غیرمستقیم وجود دارد.

**کلید واژه ها:** متوتروکسات، لیگاند، طیف سنجی UV، FT-IR.

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

## ۲- روش های تجربی

داروی متوترکسات از شرکت سانتا کروز کانادا به مقدار ۱۰۰ میلی گرم خریداری شد و طیف گیری 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 محلول های آزمایشگاهی

قبل از شروع آزمایش همه لوله ها، بالن های ژوزه و... شسته شد به گونه ای که هیچ گونه آثار آلی در آن ها 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 می کنیم. بعد با آب مقطر آن ها را می شویم و در آون با دمای C ۱۰۰ قرار می دهیم تا کاملا خشک شوند.

## ۲-۱-۱ تهیه محلول متوترکسات % ۰/۰۱ w/v / ۰/۰۱ تا لیم کلرید و پتاسیم کلرید

برای تهیه این محلول ابتدا محلول استوک آن یعنی w/v ۰/۰۱ را تهیه می کنیم. برای این منظور ۰/۰۱g از متوترکسات 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 ژوزه ۱۰۰ میلی لیتری به حجم می رسانیم. سپس برای تهیه محلول % ۰/۰۱ w/v از متوترکسات مقدار ۱cc از آن را برداشته و در بالن ژوزه ۱۰۰ میلی لیتری به حجم می رسانیم. که در نهایت محلول % ۰/۰۱ w/v متوترکسات حاصل می شود. غلظت این محلول ۰/۰۲۲ میلی مولار است. به این روش تمامی محلول ها را تهیه می کنیم.

$$\text{CVM}_w = m \quad (۲-۱)$$

m: جرم مورد نیاز از ماده بر حسب گرم،

C: غلظت مولی بر حسب میلی مولار،

M<sub>w</sub>: جرم مولی بر حسب گرم بر مول،

V: حجم محلول بر حسب لیتر

در طیف سنجی FT-IR، ابتدا سه طیف متفاوت از متوترکسات گرفته شد و سپس با طیف های کمپلکس های

## مقدمه

بررسی برهم کنش های ترکیب آلی متوترکسات با فلزات پتاسیم و تالیم که در سیستم های بیولوژیکی بدن اهمیت زیادی دارند و بررسی خواص فیزیکی و دارویی متوترکسات به عنوان داروی ضد سرطان با این فلزات و تشخیص ثابت پایداری و بررسی جایگاه های اتصال این یون ها با عوامل حلقه بر روی مستقیم یا غیر مستقیم بودن پیوند در این تحقیق مطالعه می گردد.

متوترکسات: 4-Amino-4-deoxy-10-methylpteroyl- Iglutamic نمونه اولیه داروی آنتاگونیست سیتوتوکسیک فولات ها است که به عنوان عامل سرکوب کننده سیستم ایمنی در پیوند عضو، در درمان برخی از بیماری های خود ایمنی و در درمان آسم شدید نیز استفاده می شود. و می تواند به طور معمول در نمونه های بیولوژیکی توسط تعدادی از روش های مختلف تحلیلی، که در میان روش کروماتوگرافی و ایمنی آنزیمی است اندازه گیری شود. متوترکسات یک داروی سیتوتوکسیک است، که از ۱۹۴۰ مورد استفاده قرار گرفته است. MTX، یک آنتی نئوپلاستیک است که به عنوان آنتی متابولیت فولیک اسید و تداخل با تشکیل DNA، RNA، و پروتئین عمل می کند. 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 می شود [۴]، [۵]، [۶].

MTX ساختاری همگن از اسید فولیک، به طور گسترده ای به عنوان یک داروی شیمی درمانی در درمان سرطان های مختلف و بیماری های التهابی استفاده می شود. با این حال، اثرات دارو نه تنها در سلول های سرطانی، بلکه به سرعت در سلول های در حال تکثیر، به خصوص در مخاط دستگاه گوارش و سلول های مغز استخوان ظاهر می شود. عوارض جانبی شدید درمان با MTX اغلب به: موکوزیت، تهوع، استفراغ، و اسهال محدود می شود. 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

(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  $\text{K}^+$  و  $\text{TI}^+$  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  $L = \text{غلظت اولیه فلز آزاد در نمونه (برهم کنش)}$

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

$A0 = \text{جذب MTX خالص (0.022)}$

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

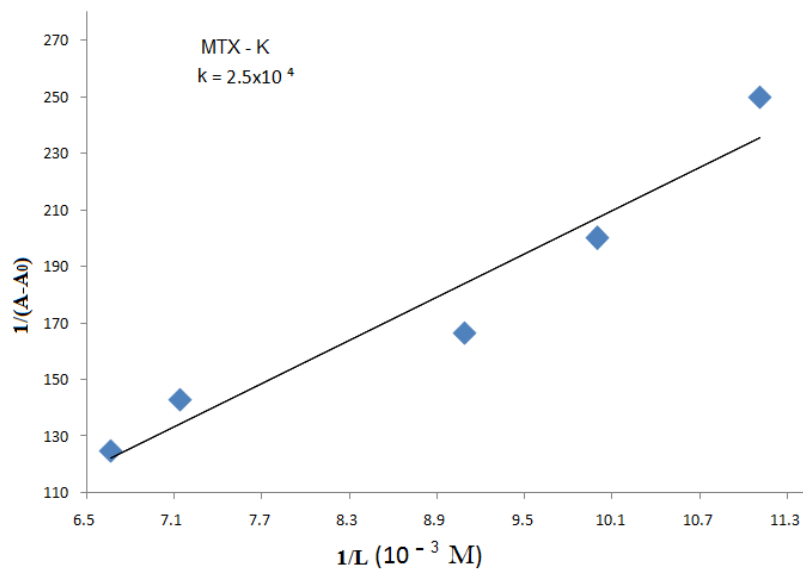
$\lambda_{\text{Max}} = 302 \text{ nm}$

جدول ۱- داده‌های UV برای برهم کنش متوترکسات - تالیوم

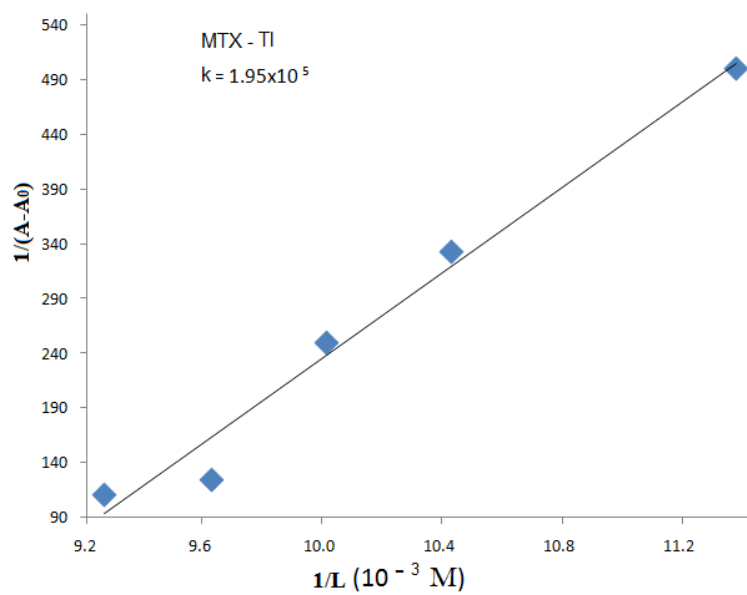
L (mM)	A	A0	1/L	1/(A0-A)
0.088	0.205	0.207	۱۱/۳۶	۵۰۰/۰۰
0.096	0.204	0.207	۱۰/۴۲	۳۳۳/۳۳
0.100	0.203	0.207	۱۰/۰۰	۲۵۰/۰۰
0.104	0.199	0.207	۹/۶۲	۱۲۵/۰۰
0.108	0.198	0.207	۹/۲۶	۱۱۱/۱۱

جدول ۲- داده‌های UV برای برهم کنش متوترکسات - پتاسیم

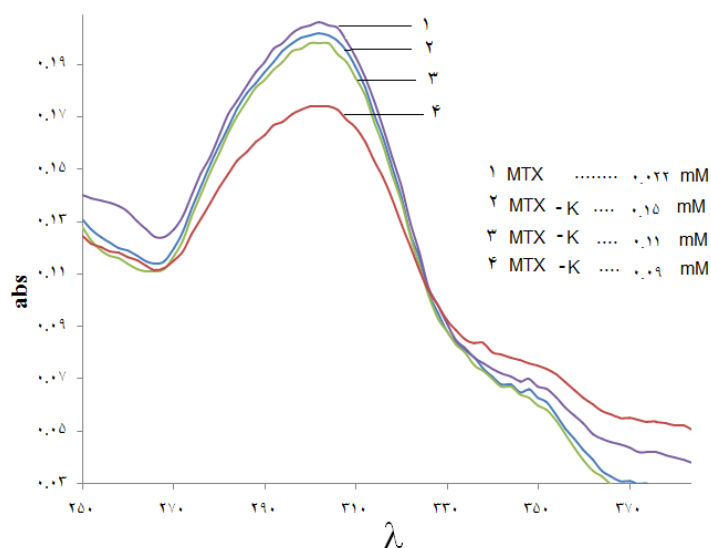
L (mM)	A	A0	1/L	1/(A0-A)
0.09	0.203	0.207	11.11	250.00
0.10	0.202	0.207	10.00	200.00
0.11	0.201	0.207	9.09	166.67
0.14	0.200	0.207	۷/۱۴	۱۴۲/۸۶
0.15	0.199	0.207	۶/۶۷	۱۲۵/۰۰



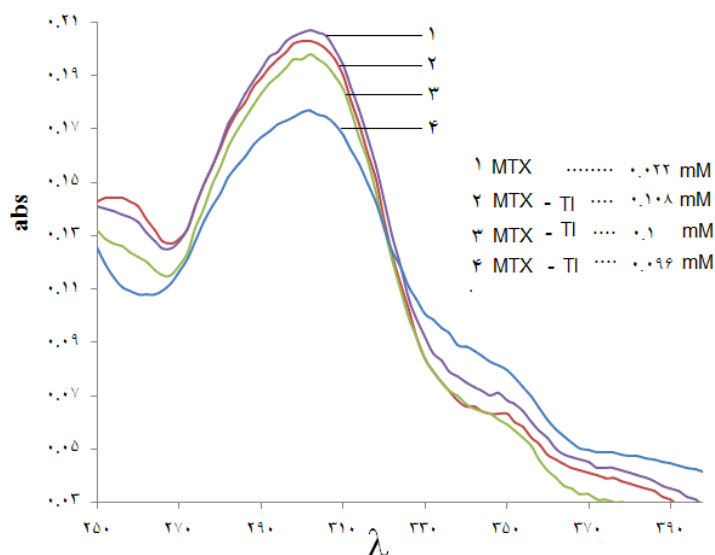
نمودار ۱: ثابت تشکیل برهم کنش متوترکسات - پتاسیم



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  $1643 \text{ cm}^{-1}$  مشاهده می شود. در غلظت پایین کاتیون (۰/۵۵۶mM) این نوار به  $1641 \text{ cm}^{-1}$  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

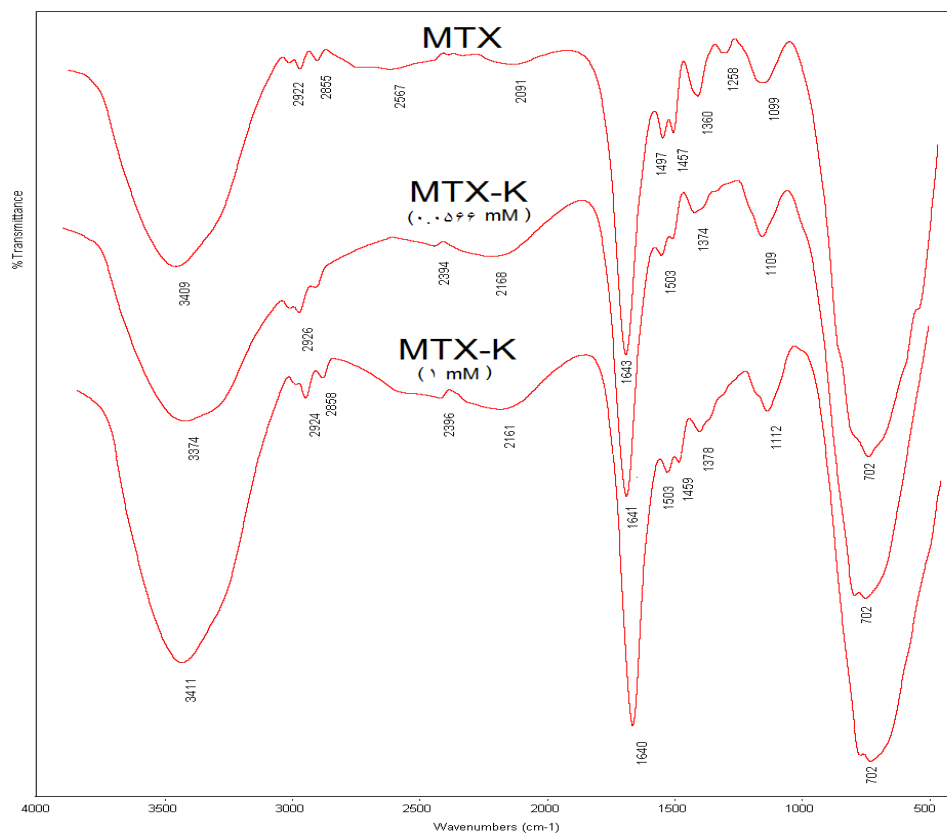
نتایج مطالعات مادون قرمز متوترکسات نشان داد که نوار جذبی قوی در  $1643 \text{ cm}^{-1}$  به ارتعاشات کششی C=O مربوط است. هم چنین نوارهای جذبی N-H و O-H در  $\text{cm}^{-1}$   $3409$  ظاهر می شوند. که به گروه‌های آمیدی و الکی مربوط است.

### 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<sup>o</sup> 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  $1640\text{ cm}^{-1}$  جابجا می‌شود. و شدت این نوار کمی افزایش می‌یابد. این تغییرات مشاهده هم‌چنین طیف ارتعاشی گروه‌های آمیدی گلوتامات و گروه آمین حلقه پتریدین در  $3409\text{ cm}^{-1}$  مشاهده می‌شود. این نوارها در برهم‌کنش متوترکسات- پتاسیم، درغلظت پایین  $0.0566\text{ mM}$  میلی مولار، به  $3374\text{ cm}^{-1}$  جابجا می‌شود. این تغییر طیفی مشاهده شده به برهم‌کنش مستقیم فلز با نیتروژن درغلظت بالاتر از 1 میلی مولار، این نوار جذبی به  $3411\text{ cm}^{-1}$  جابجا شده، و شدت آن نیز افزایش می‌یابد. تغییرات

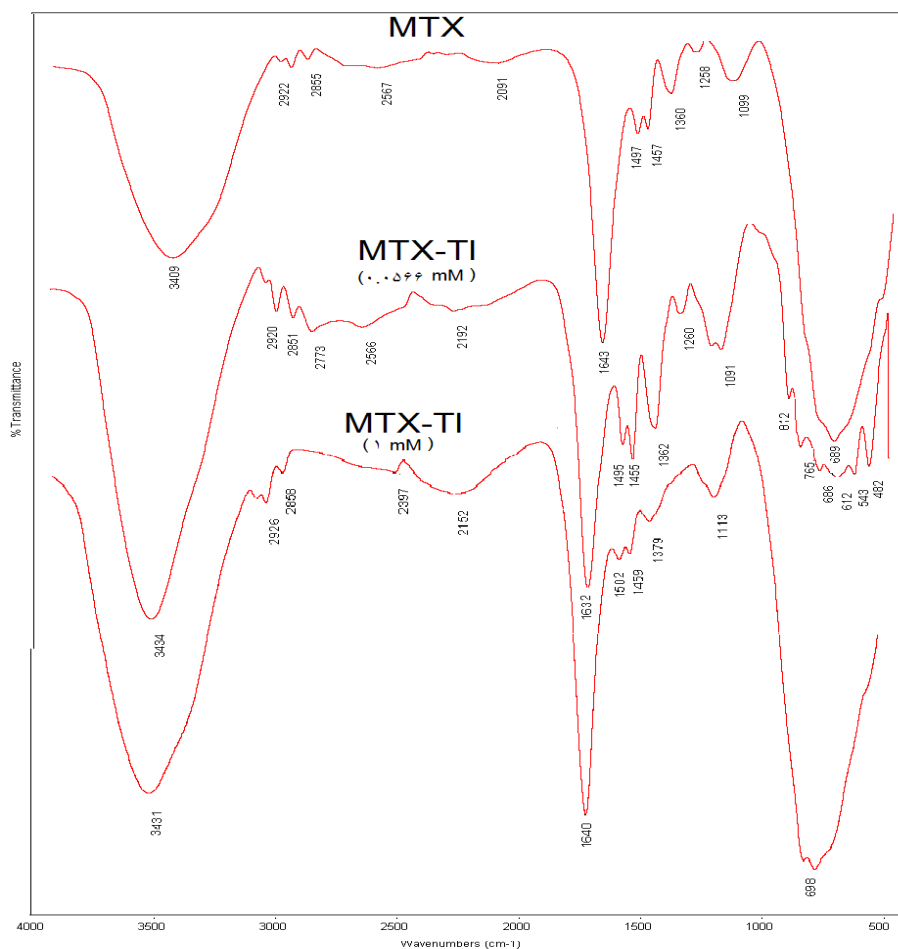


نمودار ۵: طیف FT-IR متوترکسات و برهم‌کنش با یون فلزی پتاسیم

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  $3409 \text{ cm}^{-1}$  مشاهده می شود. این نوارها در برهم کنش متوترکسات - تالیوم در غلظت پایین  $0,0556$  میلی مولار، به  $3434 \text{ cm}^{-1}$  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 1 میلی مولار این نوار جذبی به  $3431 \text{ cm}^{-1}$  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.

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

برهم کنش تالیوم با متوترکسات در دو غلظت  $0,0556$  و 1 میلی مولار و همچنین طیف متوترکسات آزاد در شکل ۳- نشان داده شده است. در طیف متوترکسات ارتعاش کششی کربونیل اسید کربوکسیلیک در  $1643 \text{ cm}^{-1}$  مشاهده می شود. در غلظت پایین کاتیون ( $0,0556 \text{ mM}$ ) این نوار به  $1640 \text{ cm}^{-1}$  جابجا شده، و شدت این نوار تغییری نشان نمی دهد. تغییرات مشاهده شده می تواند به برهم کنش مستقیم و یا غیر مستقیم فلز با گروه اسید کربوکسیلیک مربوط باشد. در غلظت بالای کاتیون ( $1 \text{ mM}$ )، ارتعاش کششی  $\text{C}=\text{O}$  به سمت فرکانس پایین تر در  $1632 \text{ cm}^{-1}$  جابجا می شود. این



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  $1643\text{ cm}^{-1}$ ، به ارتعاشات کششی  $C=O$  مربوط است. هم‌چنین نوارهای جذبی  $N-H$  و  $O-H$  در  $3409\text{ cm}^{-1}$  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، د.ل.، لمپن، گ.، ترجمه: موقت، بر.، ۱۳۶۸، «نگرشی بر طیف سنجی»، انتشارات علمی و فنی، 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.