



أثر تغيير خواص الوسط على التحلل القاعدي لنموذج نشط من كبريتات الإستر الأحادية

The Effect of Changing The Reaction Medium Properties on The Hydrolysis of Activated Model of Sulfate Monoester

عبدالفتاح محمد الخراز

كلية العلوم، قسم الكيمياء، مصراتة - ليبيا

Email: ABDO_7979355176@yahoo.co.uk

محمد سليمان ساسي

كلية التربية، قسم الكيمياء، مصراتة - ليبيا

Email: msasi40@sci.misuratau.edu.ly

الملخص

تم في هذا البحث استخدام نموذج نشط من بارا نيتروفينيل سولفيت (p-nitrophenyl sulfate (4NPS)) كمحاكاة للتحلل الحيوي لكبريتات الإستر الأحادية، لما لهذه المادة من مواصفات مناسبة لتتبع سير التفاعل. كما استخدم محلول مائي من هيدروكسيد الصوديوم كوسط تفاعل بعد أن تم إضافة كميات من الجليسرول إليه لدراسة أثر تغيير الخواص الطبيعية للوسط على معدل سرعة التفاعل، واستخدم الجليسرول لتغيير كثافة ولزوجة الوسط كتقليد للوسط الفسيولوجي حيث ينتج الجليسرول من التحلل القلوي والحمضي للجليسريدات الثلاثية في الدم. تناول هذا البحث التحلل المائي لـ 4-0.05mM NPS في وسط من 1M NaOH مع تغيير نسبة الجليسرول المضافة في كل تفاعل، مع تثبيت درجة الحرارة عند 40°C في كل التفاعلات، واستخدم جهاز الأشعة المرئية وفوق البنفسجية لتقدير معدل سرعة التفاعل بمتابعة الزيادة في تركيز بارا نيترو فينوليت من التحلل مع الزمن. أشارت النتائج المتحصلة عليها إلى أن معدل سرعة التفاعل يزداد بزيادة نسبة الجليسرول في وسط التفاعل. كما تم دراسة التحلل المحفز بأيون الهيدروكسيد (1M KOH) في درجات حرارة مختلفة لإيجاد الدوال الثيرموديناميكية لهذا التفاعل.

الكلمات الدالة — تحلل كبريتات الإستر الأحادية، تحلل نموذج نشط لـ DNA في وسط قلوي، إضافة نسب مختلفة من الجليسرول إلى الوسط

ولزوجته، وذلك بسبب إضافة الجليسرول، ولهذا السبب تم استخدام الجليسرول لدراسة تأثير تغيير كثافة وسط التفاعل.

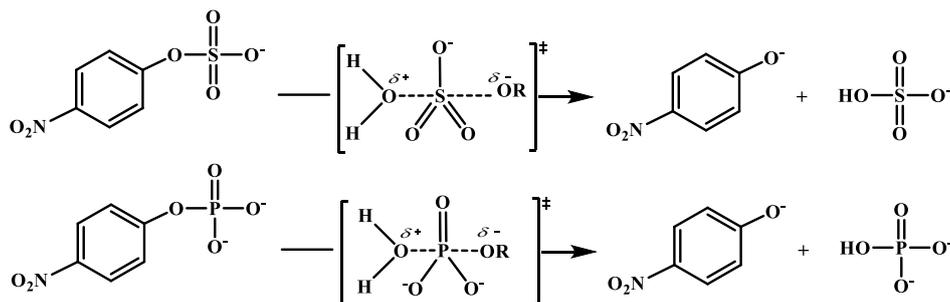
وبسبب الاهتمام المتزايد بأهمية كبريتات الإستر الأحادية في الكائنات الحية، وتزايد الجهود المبذولة لفهم التحلل المائي لها، عليه من الضروري إيجاد فهم واضح مماثل لتفاعلاتها في محاليلها. وهنا من المفيد أن نلاحظ التشابه والاختلاف بين سلوك كبريتات الإستر الأحادية وفوسفات الإستر الأحادية، حيث يعتقد أن التحلل المائي لكبريتات وفوسفات الإستر الأحادية يحدث بميكانيكية وحالة انتقالية متشابهة كما هو موضح بالشكل (1). وكذلك هناك نفس الاعتقاد بتشابه ميكانيكيات تحللهم المحفزة بواسطة أنزيمات الكبريتازات والفوسفاتازات sulfatases and phosphatases.

عززت هذه الاعتقادات حول الحالة الانتقالية المتشابهة للتحلل المائي لكبريتات وفوسفات الإستر الأحادية من الكثير من الباحثين [3، 4]. ونقص المعلومات الكافية عن التحلل المائي لكبريتات الإستر الأحادية يقلل من فرص محاولة مقارنة التحلل المائي لكبريتات الإستر الأحادية بنظيرتها الفوسفات الأحادية رغم تشابههم الهندسي والفراغي [5، 6].

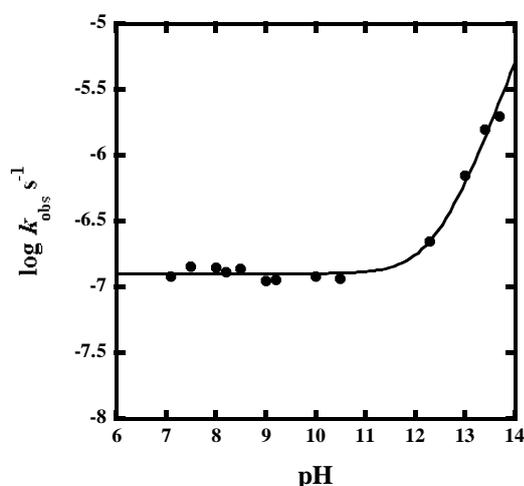
1. المقدمة Introduction

أملاح الكبريتات تنتج من استبدال إحدى ذرتي الهيدروجين بعنصر آخر أو مجموعة أخرى سواء كانت عضوية أو غير عضوية. فالكبريتات الإستيرية يمكن أن تتشكل من تفاعل أسترة لحمض الكبريتيك لموضع واحد أو موضعين لتتكون كبريتات الإستر الأحادية أو كبريتات الإستر الثنائية على التوالي، وكبريتات الإستر الأحادية تتواجد طبيعياً وتلعب دور حيوي حاسم في العديد من العمليات الحيوية، وبالرغم من أهمية كبريتات الإستر الأحادية فإن الأبحاث التي ناقشت تحللها ودورها الحيوي لا تزال متواضعة مقارنة بنظيرتها الفوسفات الإستيرية. من جهة أخرى، فإن تفاعلات التحلل المائي لكبريتات الإستر الثنائية نشطة جداً مقارنة بكبريتات الإستر الأحادية وهي لا تتواجد تلقائياً أو طبيعياً في الطبيعة بل تحضر صناعياً [1، 2].

الدهون هي عبارة عن جليسيريدات، وتصنف الجليسيريدات إلى جليسيريدات أحادية وثنائية وثلاثية بناء على عدد وحدات الأحماض الدهنية، وتوجد الدهون المتعادلة (الجليسيريدات الثلاثية) في أنسجة الكائن الحي، والتي قد تتحلل أحياناً في الدم إلى جليسرول وأحماض دهنية ومنها تغيير كثافة الدم



شكل (1) يوضح الحالة الانتقالية المتشابهة المقترحة للتحلل المائي لكبريتات وفسفات الإستر الأحادية في المحاليل المائية.



الشكل (3) يوضح تأثير pH على معدل التفاعل للتحلل المائي لكبريتات الإستر الأحادية عند درجة حرارة 35 °C.

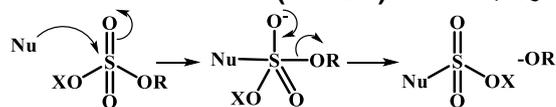
والبحوث السابقة لتحلل كبريتات الإستر الأحادية اقترحت أن التحلل التلقائي لكبريتات الإستر الأحادية يحدث من خلال ميكانيكية مشابهة لتلك في فوسفات الإستر الأحادية ثنائية الشحنة، والتي تكون فيها الحالة الانتقالية فضفاضة، ول سوء الحظ أن كبريتات الإستر الأحادية تمتلك نشاطية منخفضة جدا تحت الظروف الاعتيادية، لذلك فإن درجات حرارة مرتفعة استعملت للحصول على معدلات تفاعلاتها المستوحاة من علاقة أرهينيوس لتأثير درجات الحرارة على التفاعل وكذلك الحصول على معايير ومؤشرات ثيرموديناميكية مثل ΔS^\ddagger ، ΔG^\ddagger لمناقشة ميكانيكية التفاعل [1، 10، 11].

والشكل (3) اوضح أن منطقة الحفز القاعدي تمتد من حوالي 11.5-14 حيث أن معدل التفاعل فيها يزداد بازدياد تركيز النيكلوفيل (O-H) والتفاعل هنا قد يمضي من خلال انكسار الرابطة S—O أو C—O للمادة المتفاعلة [12].

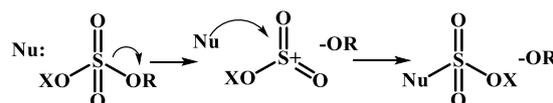
التفاعلات الحيوية في جسم الكائن الحي ذات أهمية كبيرة وبالغة وتتأثر بالظروف المحيطة بها، ومن هنا استهدفت هذه الدراسة البحثية التحلل المائي لنموذج نشط من الكبريتات الأحادية (بارا نيتروفينيل سولفيت مونو استر (4-NPS)) كمحاكاة طبيعية للتحلل الحيوي للكبريتات الأحادية في جزيئة كبريتات الأسترون الطبيعية.

التحلل المائي لكبريتات الإستر الأحادية يمكن أن يتبع إحدى الميكانيكيات الثلاثة (فضفاضة dissociative، وترابطية associative، ومنسقة أو متزامنة concerted)، لتعطي نفس النواتج عندما تتفاعل مع أو تتعرض لهجوم نيكلوفيلي كما هو مبين بالشكل (2) التالي:

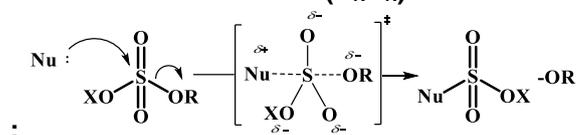
Associative mechanism (AN+DN)



Dissociative mechanism (DN+AN)



Concerted mechanism (AN_{DN})



شكل (2) يوضح الطرق المختلفة لميكانيكية التعويض النيكلوفيلي لتحلل كبريتات الإستر الأحادية [7، 8].

محاولات قليلة أجريت للحصول على قيم دقيقة لفترة نصف العمر للتحلل المائي لكبريتات الإستر الأحادية، وذلك للنشاطية الضعيفة إلى الحد الكبير لكبريتات الإستر الأحادية اتجاه التحلل المائي والتي تمنع الملاحظة المباشرة لمتابعة حدوث التفاعل تحت الظروف المعتدلة العادية، واستعملت طرق بديلة لحل هذه المشكلة وحساب معدلات التفاعل والتي يمكن أن يتحصل عليها من إجراء هذه التجارب عند درجات الحرارة العالية، واستعمال مواد متفاعلة نشطة من كبريتات الإستر الأحادية تحتوي على مجاميع مغادرة جيدة وكذلك تغيير pH التفاعل لتأسيس علاقة تبين تأثير pH على معدل التفاعل، الشكل (3) (pH-rate profile) [9]. ومنحني تأثير pH على معدل تحلل كبريتات الإستر الأحادية أظهر منطقة غير معتمدة على ال pH تمتد من 6-12، وبعدها أظهر منطقة حفز قلوية تمتد بين 12-14، وقياس معدل التحلل المائي التلقائي (الغير معتمد على ال pH) لكبريتات الإستر الأحادية لتقدير النشاطية الرئيسية للتفاعلات الأنزيمية المقابلة لهذه التفاعلات (تحلل كبريتات الإستر الأحادية).

حساب كثافة المحاليل القاعدية (وسط التفاعل):

استخدمت تقنية الكثافة لحساب كثافة وسط التفاعل (d) المتغيرة بتغير إضافة نسب الجليسرول المختلفة إلى محلول 1M NaOH، وتم تعيين الكثافة من العلاقة التالية:

$$d = \frac{w(g)}{v(ml)}$$

حيث: d كثافة المحلول، w وزن المحلول، v حجم المحلول (50ml).

تعيين اللزوجة النسبية لوسط التفاعل:

تم تعيين لزوجة المحاليل (وسط التفاعل) باستخدام مقياس اللزوجة (Oswald's viscometer) وبالتعويض في العلاقة:

$$\frac{t_1 \times d_1}{t_2 \times d_2} = \frac{\eta_1}{\eta_2}$$

حيث: η_1 = لزوجة المحلول.

η_2 = لزوجة الماء.

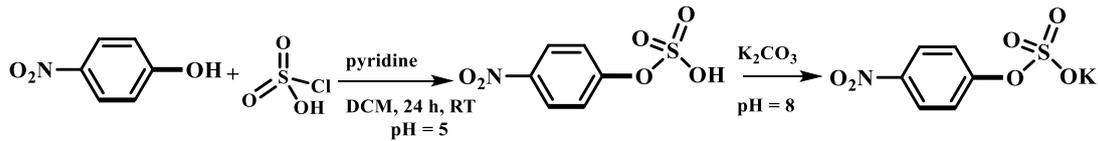
t_1 = متوسط الزمن المستغرق للسائل.

t_2 = متوسط الزمن المستغرق للماء.

(علماً بأن لزوجة الماء عند درجة حرارة (T=20°C) تساوي 0.080، وكثافته عند نفس الدرجة تساوي 0.9982).

تحضير المادة المدروسة في البحث بارا نيتروفيثيل سولفيت مونو استر (4-NPP):

تحضر هذه المادة كما موضح في المخطط (1)، من تفاعل مول من البارانا نيترو فينول مع مول من حمض كلورو سلفوريك في وجود البريديين وتحت غاز الأرجون مع التقليب في الخطوة الأولى، أما في الخطوة الثانية فيتم استخراج المادة البيضاء باستخدام ثنائي ايثانل ايثر، ثم تذاب في الماء. المادة المطلوبة يتحصل عليها بالتخلص من المذيب، وبإعادة البلورة باستخدام الايثانول، وبعدها تجفف تحت الضغط المخلخل، وفي النهاية يتم الحصول على المركب المطلوب (4-NPS).

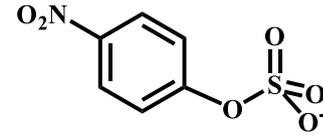


مخطط (1) تحضير بارا نيتروفيثيل سولفيت مونو استر (4-NPP)

3- تقاس الامتصاصية لسلسلة من المحاليل ذات التراكيز (50، 60، 40، 30، 20، 10) التي تم تحضيرها مسبقاً باستخدام محلول قياسي من مركب 4- نيترو فينول (10mM 4-NP) و محلول 1M NaOH و 10% جليسرول.

4- ترسم العلاقة بين الامتصاصية والتركيز.

5- تحسب الامتصاصية المولارية (E) من خلال ميل الخط المستقيم الناتج عن الرسم (E = الميل).



4-NPS

ويمكن تلخيص أهداف البحث في الآتي:

دراسة أثر تغيير كثافة الوسط على ثابت سرعة التفاعل لتحلل المركب 4-NPS في الوسط القاعدي وذلك بإضافة نسب مختلفة من الجليسرول (0%، 10%، 20%، 40%) إلى محلول هيدروكسيد الصوديوم تركيزه واحد مولاري (1M NaOH) للحصول على كثافات مختلفة لوسط التفاعل، وحساب الدوال التيرموديناميكية لتفاعل تحلل النموذج المدروس في الوسط القاعدي.

المواد وطرق العمل

تحضير المحاليل:

تحضير محاليل 1M من NaOH تحتوي على نسب مختلفة من الجليسرول (0%، 10%، 20%، 40%).

- حضر المحلول الأول (0% جليسرول + 1M NaOH)، بإذابة 4g من NaOH في دورق سعته 100ml بالماء المقطر واكمل الحجم إلى العلام.

- حضر المحلول الثاني (10% جليسرول + 1M NaOH)، بإذابة 4g من NaOH في دورق قياسي سعته 100ml في قليل من الماء المقطر ثم اضيف 10ml من الجليسرول واكمل الحجم بالماء المقطر إلى العلامة.

- حضر المحلول الثالث (20% جليسرول + 1M NaOH)، بإذابة 4g من NaOH في دورق قياسي سعته 100ml في قليل من الماء المقطر ثم اضيف 20ml من الجليسرول واكمل الحجم بالماء المقطر إلى العلامة.

- حضر المحلول الرابع (40% جليسرول + 1M NaOH)، بإذابة 4g من NaOH في دورق قياسي سعته 100 ml في قليل من الماء المقطر ثم اضيف 40 ml من الجليسرول واكمل الحجم بالماء المقطر إلى العلامة.

وقد استخدمت هذه المادة 4-NPS في هذا البحث للحصول على بارانا نيترو فينوليت كمجموعة مغادرة، $pK_a = 7.14$ ، وتمتص للأشعة المرئية والفوق بنفسجية عند 400 nm [13، 14].

تحضير 10mM محلول من مركب 4-NPS:

حضر محلول المركب بإذابة 0.013 g من مركب 4-NPS (M. wt = 257g/mol) في 5ml من الماء المقطر.

حساب الامتصاصية المولارية (Epsilon) للمركب 4- نيترو فينول في ظروف التفاعل:

1- يشغل جهاز UV-vis ويتثبت الطول الموجي عند 400nm.
2- تملأ الخلية التي حجمها 3 ml بمحلول (1M NaOH و 10% الجليسرول)، ويطرح امتصاص الخلية و المحلول.

حيث:

$$\Delta S^\ddagger : \text{انتروبي التفاعل (J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}\text{)}.$$

$$\Delta H^\ddagger : \text{انتالي التفاعل (J mol}^{-1}\text{)}.$$

$$K_B : \text{ثابت بولتزمان (1.38} \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}\text{)}.$$

$$H : \text{ثابت بلانك (6.26} \times 10^{-34} \text{ J s}^{-1}\text{)}.$$

$$R : \text{ثابت الغازات (8.314472 J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}\text{)}.$$

$$k : \text{ثابت سرعة التفاعل بوحدة ثانية}^{-1} \text{ (s}^{-1}\text{)}.$$

$$T : \text{درجة الحرارة مقياسة بوحدة الكلفن (K)}.$$

النتائج والمناقشة Results and Discussion

كثافة ولزوجة وسط التفاعل

يوضح الجدول (1) كثافة اوساط التفاعل المستخدمة في الدراسة، حيث يلاحظ ان كثافة الوسط تزداد بزيادة نسبة الجلسرين، حيث كانت اقل كثافة لمحلول 1M NaOH، واعلاها للمحلول المحتوي على 40% من الجليسرول.

جدول 1: كثافة اوساط التفاعل المستخدمة في الدراسة

الكثافة d (g/ml)	وزن العينة (g)	وزن قتيبة والكثافة العينة (g)	% الجليسرول
1.030	51.488	80.479	0%
1.051	52.540	81.530	10%
1.079	53.944	82.934	20%
1.125	56.239	85.229	40%

ويلاحظ من الجدول (2) ان اللزوجة لهذه الاوساط ازدادت ايضاً بزيادة نسبة الجليسرول، وهذا يتفق مع ذكر سابقاً عن تأثير زيادة تركيز الجليسرول على لزوجة المحلول [15].

حساب الامتصاصية المولارية (ϵ) للمركب 4- نيترو فينول:

تم ايجاد الامتصاصية المولارية للمركب 4-NPS ، وذلك من خلال قياس الامتصاص لمحاليه القياسية تركيزها ما بين $10 \mu\text{M}$ - 60 ، وفي وسط تفاعل مكون 1M NaOH و 10% جليسرول عند درجة حرارة 40°C ، ووضحت النتائج في الشكل (4)، ومن ميل الخط المستقيم لهذا الشكل وبالتطبيق في قانون بير- لامبير تم حساب الامتصاصية المولارية (ϵ) لايون 4- نيترو فينوليت، ووجدت ان قيمة الامتصاصية المولارية تساوي $19711 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ، واستخدمت هذه القيمة للتطبيق في قانون بير- لامبيرت ($A = \epsilon \times C \times L$) لحساب الامتصاصية العظمى (A) للمجموعة المغادرة 4-NP عند نهاية التفاعل، والتي ستستخدم لاحقاً لتقدير ثابت معدل سرعة التفاعل، وبالتطبيق في القانون وجد ان قيمتها = 1.97

جدول 2: يوضح لزوجة الماء النقي والاوساط المختلفة المكونة من هيدروكسيد الصوديوم والجليسرول

المحلول	الزمن الاول t(s)	الزمن الثاني t(s)	الزمن الثالث t(s)	متوسط الزمن t(s)	اللزوجة (η N.s.m ⁻²)
الماء	8.805	8.775	8.915	8.832	0.080
0%	10.50	10.52	10.45	10.49	0.0979
10%	13.29	13.28	13.48	13.35	0.01272
20%	19.22	19.38	19.40	19.33	0.1892
40%	39.24	39.22	39.41	39.29	0.4448

حساب معدل التفاعل لتحلل 4-NPS بتغيير كثافة الوسط القاعدي بإضافة نسب مختلفة من الجليسرول:

1- يتم تشغيل جهاز UV-vis ويثبت الطول الموجي عند 400nm.

2- تملأ الخلية التي سععتها 1ml بالمحلول الذي يحتوي على 40 % جليسرول 60 % محلول 1M NaOH بواسطة الماصة الميكرولتريية $1000 \mu\text{l}$.

3- توضع الخلية و بها المحلول (وسط التفاعل) في جهاز UV-vis المرتبط بالحمام المائي المثبت عند درجة حرارة 40°C ، ويترك فترة للاتزان الحراري تم يطرح امتصاص الخلية والوسط.

4- تضاف إلى الخلية التي تحتوي على $990 \mu\text{l}$ من محلول وسط التفاعل، ويضاف اليه $10 \mu\text{l}$ من محلول 4-NPS 10mM ليتم الحصول على محلول للمادة المتفاعلة بتركيز 0.10 mM 4-NPS، ثم تغلق الخلية بغطائها و ترج.

5- توضع الخلية في جهاز UV-vis و تؤخذ الامتصاصية عند الزمن = صفر و هو الزمن الذي يبدأ فيه التفاعل بمجرد إضافة $10 \mu\text{l}$ من محلول 4-NPS 10 mM إلى وسط التفاعل، ثم يتم تتبع انجاز التفاعل و ذلك بقراءة الامتصاصية عند فترات زمنية مختلفة، وبسبب بطء هذا التفاعل فيتم مراقبة نسبة بسيطة منه ولا تزيد عن 5% من التفاعل.

6- ترسم العلاقة بين الامتصاصية والزمن للحصول على خط مستقيم، ومن الرسم بحسب ثابت معدل التفاعل للمركب 4-NPS باستخدام المعدل الابتدائي (Initial rate) من العلاقة التالية: $k_{\text{obs}} = \text{Slope}/A$ حيث أن $\text{Slope} =$ الميل الخط المستقيم الذي تم الحصول عليه من خلال الرسم، و A هي الامتصاصية العظمى أو امتصاص 4-NP الكلي الناتج عند نهاية التفاعل، k_{obs} هي ثابت معدل التفاعل الملاحظ.

7- تكرر الخطوات السابقة مرة أخرى باستخدام وسط التفاعل 20 %، 10 %، 0 % جليسرول بدلاً من 40 %.

حساب الدوال التيرموديناميكية لتفاعل تحلل 4-NPS في وسط قاعدي (1M KOH)

تم بحساب ثابت معدل التفاعل لتحلل 4-NPS في وسط قاعدي (1M KOH) في درجات حرارة مختلفة (35, 65, 75 and 100°C) وبدون اضافة الجليسرول، وباستخدام معادل ارج (Eyring Equation)، $\ln\left(\frac{k}{T}\right) = \ln\left(\frac{k_B}{h}\right) + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} - \frac{\Delta H^\ddagger}{RT}$ ، العلاقة بين $\left(\frac{1}{T}\right)$ مقابل $\ln\left(\frac{k}{T}\right)$ ، يتم الحصول على خط مستقيم ميله يساوي $\left(-\frac{\Delta H^\ddagger}{R}\right)$ و الجزء المقطوع يساوي $\ln\left(\frac{k_B}{h}\right) + \frac{\Delta S^\ddagger}{R}$

وقد وجد سابقا ان ثابت سرعة التحلل للمركب المدروس (4-NPS) في الوسط القاعدي عند درجة حرارة 35 °C وقوة أيونية = 1 مساويا $5 \times 10^{-8} \text{ S}^{-1}$ [9]، وعند درجة حرارة 75 °C وقوة أيونية = 1 مساويا $6.8 \times 10^{-5} \text{ S}^{-1}$ [16].

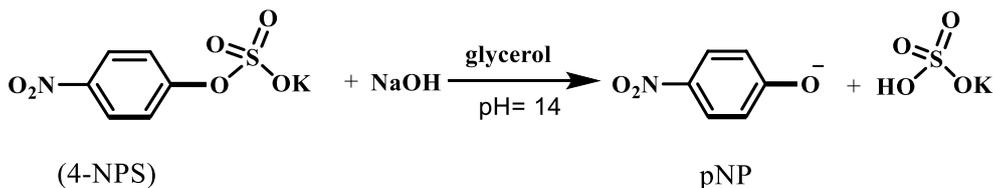
يلاحظ من الشكل (5-8) والتي جمعت في الشكل (9) أن تغيير كثافة الوسط القاعدي بنسب مختلفة من الجليسرول (0%، 10%، 20%، 40%) أثرت على معدل التفاعل لـ 4-NPS مما يستدل على أن زيادة كثافة الوسط القاعدي تؤدي إلى زيادة معدل التفاعل لـ 4-NPS.

من المعلوم أن تحلل 4-NPS في الوسط القاعدي يتم كما هو موضح في المخطط (2)، وينتج عن هذا التحلل 4- نيترو فينوليت كمجموعة مغادرة والتي تمتص الأشعة المرئية و فوق بنفسجية عند 400nm، كذلك ينتج الكبريتات غير العضوية في الوسط القاعدي PH = 14. ويعتبر التفاعل الذي تم من خلاله الحصول على 4- نيترو فينوليت كمجموعة مغادرة من تفاعلات الرتبة الأولى الكاذبة. وفي دراسة سابقة عن تأثير نوع المذيب (الوسط) على سرعة تفاعل التحلل للكبريتات الاحادية، ووجد ان استخدام *tert*-amyl alcohol كمذيب عند 35°C تقل سرعة التفاعل ب 40 مرة عن سرعته في الوسط المائي، كما وجد ان سرعة التفاعل تزداد بمقدار 40 مرة بزيادة نسبة DMSO في الماء كوسط تفاعل [17].

ويمكن التنبؤ بالميكانيكية التي يسير بها التفاعل المدروس، هل يتم وفق ميكانيكية SN1 أو SN2. حيث تعتمد ميكانيكية SN1 على تركيز مادة واحدة و تتم في خطوتين أما SN2 تعتمد على تركيز مادتين و تتم في خطوة واحدة. فإذا كان التفاعل يسير وفق SN1 فإنه يتبع ميكانيكية Dissociative كما هو موضح في المخطط (3). ففي المخطط فيميكانيكية (SN1) يلاحظ فيها خروج المجموعة المغادرة 4-NP بمجرد اقتراب النيوكليوفيلي (HO⁻) وتكون مركب وسطي هو ميتا سولفيت وهي الميكانيكية المفضلة [18]، أما كان التفاعل يسير وفق SN2 فإنه يتبع الميكانيكية Concerted كما هو موضح في المخطط (3).

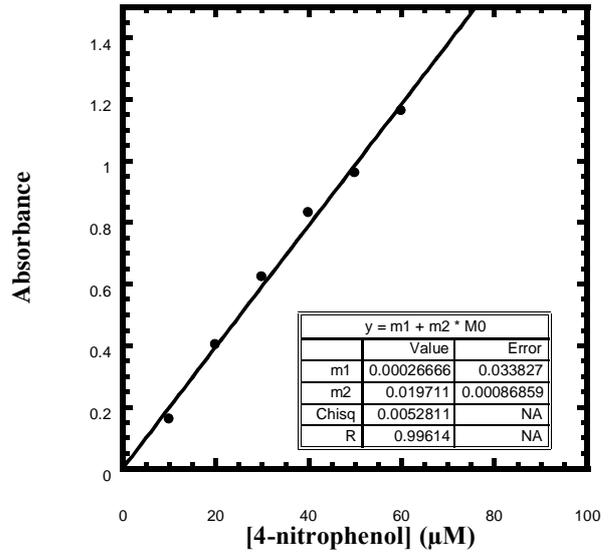
من الشكل (2) ففي الميكانيكية Associative يلاحظ أن هجوم النيوكليوفيلي (HO⁻) أدى إلى انزلاق الالكترونات المكون لرابطة باي على ذرة الأوكسجين وتكوين مركب وسطي هو السولفين الذي يحتوي على خمس روابط وبالتالي فإنه يمتلك نفس خصائص التركيب البنائي للمادة المدروسة 4-NPS التي تحتوي فيها مجموعة السولفات على خمس روابط [11، 12]، عند رجوع زوج الالكتروني ليكون رابطة باي مرة أخرى يؤدي هذا إلى خروج المجموعة المغادرة 4-NP.

أما في المخطط (3) فالتفاعل الذي يتبع ميكانيكية Concerted نلاحظ هجوم النيوكليوفيلي HO⁻ من الجهة المعاكسة للمجموعة المغادرة فتتكون حالة انتقالية لحظية يؤدي فيها هجوم النيوكليوفيلي HO⁻ وخروج المجموعة المغادرة النشطة في نفس اللحظة [3، 4]. بما أن المادة المدروسة 4-NPS تحتوي على مجموعة مغادرة نشطة يتم الحصول عليها عند $pK_a = 7.14$ إذاً هذا يرجح على أن التفاعل يسير وفق SN₂ وقد يكون خلال ميكانيكية Concerted.



مخطط 2: يوضح تحلل 4-NPS في الوسط القاعدي

Epsilon of 4-nitrophenate in 1 M NaOH



الشكل (4) يوضح العلاقة بين الامتصاصية مع التركيز للمركب 4- نيترو فينول عند درجة حرارة 40°C، الميل = 0.019711، التقاطع = 0.00027، معامل الارتباط = 0.996 .

و بمقارنة قيمة الامتصاصية المولارية المتحصل عليها في الدراسة الحالية بنتائج الدراسات السابقة التي كان فيها قيمة الامتصاصية المولارية 18300 ووسط التفاعل يحتوي على NaOH و 4-NPS دون تغيير كثافة الوسط نجد أن قيمة الامتصاصية المولارية زادت وهذا يعني أن تغيير كثافة الوسط (بإضافة الجليسرول) أثرت على قيمة Epsilon لبارا نيترو فينول.

حساب معدل سرعة التفاعل (k_{obs}) للمركب 4-NPS

من الشكل (5) تم حساب ثابت معدل التفاعل (k_{obs}) لتفاعل المركب 4-NPS 0.1 mM مع 1M NaOH نسبة الجليسرول فيه 0 % من العلاقة التالية:

$$k_{obs} = \text{Slope} / A$$

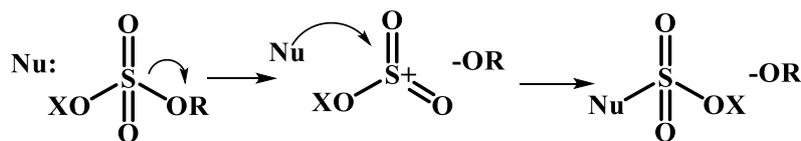
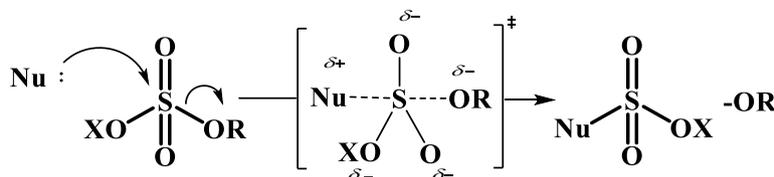
$$= 6.7966 \times 10^{-7} / 1.97$$

$$k_{obs} = 3.45 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$$

وبالمثل من الشكل (6) تم (k_{obs}) لتفاعل المركب 4-NPS 0.1mM مع 1M NaOH نسبة الجليسرول فيه 10 %، ووجد ان

$$k_{obs} = 4.00 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$$

ومن الشكل (7) تم حساب ثابت معدل التفاعل (k_{obs}) لتفاعل المركب 4-NPS 0.1 mM مع 1M NaOH نسبة الجليسرول فيه 20 %، ووجدت قيمته $4.52 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$. أما قيمة هذا الثابت (k_{obs}) لتفاعل المركب 4-NPS 0.1 mM مع 1M NaOH نسبة الجليسرول فيه 40 %، فقد تم حسابها من ميل الخط المستقيم الذي تم الحصول عليه من الشكل (8)، وكانت قيمته $5.20 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$.

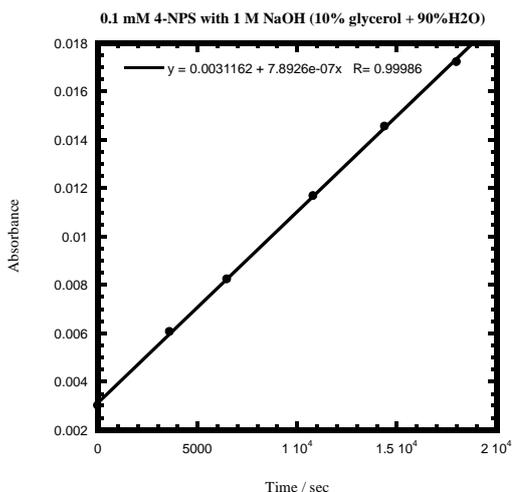
Dissociative (SN₁)Concerted (SN₂)

مخطط 3: الميكانيكيات المقترحة للتحلل.

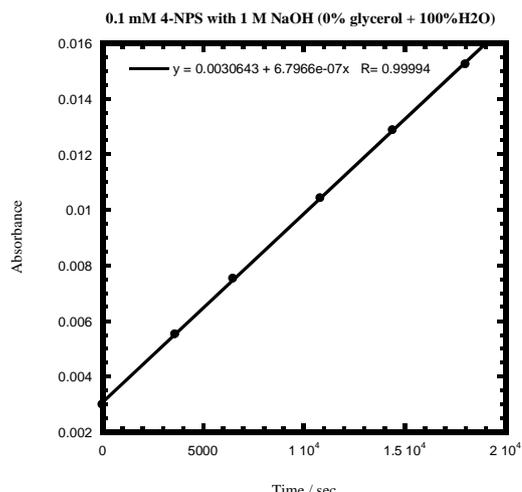
ووجد أنها تساوي 99.4 kJ mol^{-1} ، كما تم حساب الانتروبي (ΔS^\ddagger) للتفاعل المدروس ووجد أنها تساوي $-63.6 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ، وهذا القيم تدل على ان التفاعل تناني الجزيئة والتي يفترض ان جزيئات المذيب تدخل في الحالة الانتقالية. وعموما الانتالبي والانتروبي ليست مفيدة دائما لتحديد ميكانيكية التفاعل لأنه توجد عوامل تؤثر على هذه الدوال مثل المذيب و درجة الحرية، فالقيمة الكبيرة السالبة للانتروبي لانتروبي عادتا تدل على الميكانيكية الترابطية (associative mechanism).

حساب الدوال التيرموديناميكية لتفاعل التحلل المائي للمركب 4-NPS

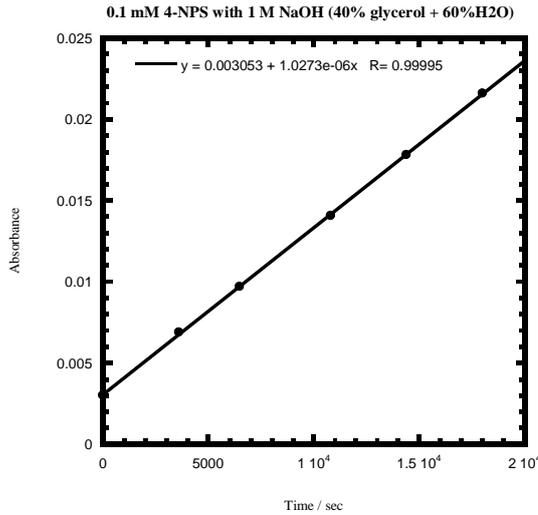
الشكل (10) يوضح العلاقة بين $\ln k_{\text{obs}}$ (التي تم الحصول عليها في درجات حرارة تراوحت ما بين 35°C و 100°C) مقابل $\frac{1}{T}$ درجة الحرارة المطلقة (K)، ومن الشكل تم الحصول على ميل الخط المستقيم الناتج والجزء المقطوع والتي منهما تم حساب انتالبي التفاعل (ΔH^\ddagger).



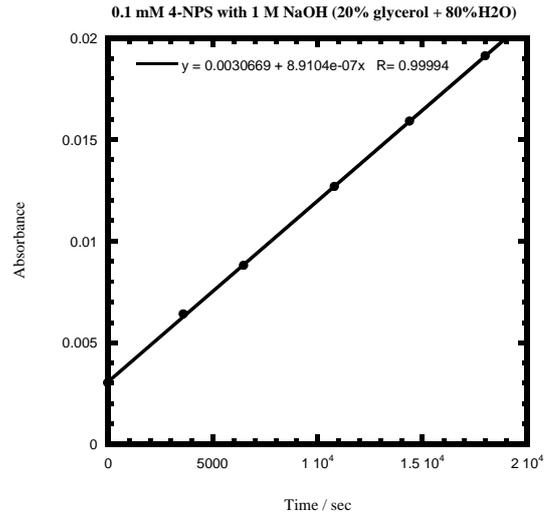
الشكل (6) يوضح العلاقة بين امتصاصية 4-نيترو فينوليت كمجموعة مغادرة مع الزمن في تفاعل 0.1 mM 4-NPS مع 1M NaOH نسبة الجليسرول فيه 10% عند 40°C الميل = 7.89×10^7 ، التقاطع = 0.0031، معامل الارتباط = 0.999.



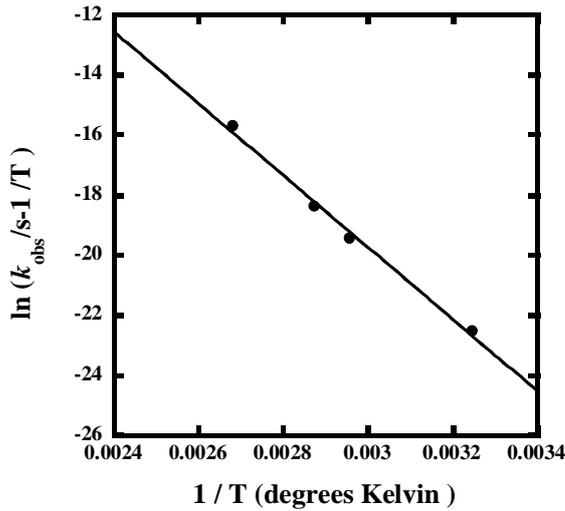
الشكل (5) يوضح العلاقة بين امتصاصية 4-نيترو فينوليت مجموعة مغادرة مع الزمن في تفاعل 0.1 mM 4-NPS مع 1M NaOH ونسبة الجليسرول فيه 0% عند 40°C الميل = 6.7966×10^7 ، التقاطع = 0.0031، معامل الارتباط = 0.999.



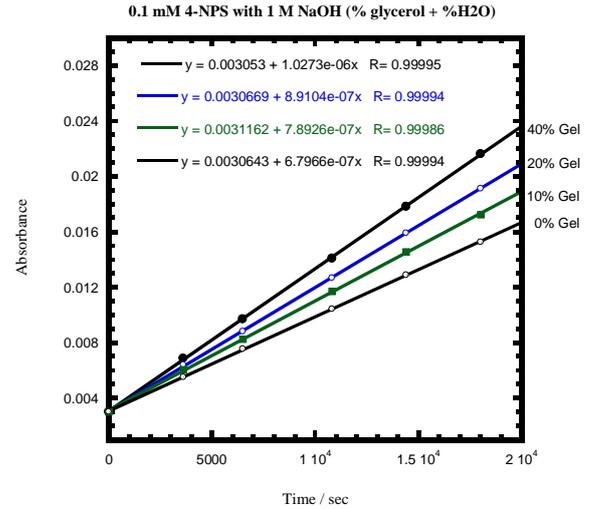
الشكل (8) يوضح العلاقة بين امتصاصية 4- نيترو فينوليت كمجموعة مغادرة مع الزمن في تفاعل 0.1 mM 4-NPS مع 1M NaOH نسبة الجليسرول فيه 40% عند 40°C، الميل = 1.0273×10^6 ، التقاطع = 0.0031، معامل الارتباط = 0.999.



الشكل (7) يوضح العلاقة بين امتصاصية 4- نيترو فينوليت كمجموعة مغادرة مع الزمن في تفاعل 0.1 mM 4-NPS مع 1M NaOH نسبة الجليسرول فيه 20% عند 40°C، الميل = 8.9104×10^7 ، التقاطع = 0.0031، معامل الارتباط = 0.999.



شكل 10: يوضح رسم معادلة أرنيغ لتفاعل تحلل المركب 4-NPS في محلول 1M KOH، في درجات حرارة مختلفة، لحساب الدوال التيرموديناميكية، والخط المستقيم له ميل يساوي 11951 - ، و الجزء المقطوع يساوي 16.11



الشكل (9) يوضح العلاقة بين امتصاصية 4- نيترو فينوليت كمجموعة مغادرة مع الزمن تحت ظروف التفاعل (تغيير كثافة ولزوجة الوسط القاعدي بإضافة نسب مختلفة من الجليسرول (0 ، 10% ، 20% ، 40%) و عند 40°C.

4- إعادة الدراسة بإضافة نسب أخرى من الجليسرول أو استخدام مواد أخرى تغير من خواص وسط التفاعل.

المراجع: References

- (1) Cleland, W. W. and Hengge, A. C., (2006), Enzymatic Mechanisms of Phosphate and Sulfate Transfer. Chemical Reviews, 106 (8), 3252-3278.
- (2) Sardiello, M.; Annunziata, I.; Roma, G. and Ballabio, A., (2005), Sulfatases and sulfatase

الخلاصة: Conclusion

ان تفاعل التحلل المائي للمركب 4-NPS في الوسط القاعدي يتأثر بتغير كثافة ولزوجة وسط التفاعل، حيث يزداد ثابت السرعة للتفاعل بزيادة لزوجة الوسط أي بزيادة نسبة الجليسرول، وأن هذا التفاعل على الأرجح يسير وفق SN_2 وبالميكانيكية Concerted أو Associative.

التوصيات: Recommends

- 1- قياس معدل التفاعل في درجات حرارة أعلى وأقل من 40 °C.
- 2- إجراء الدراسة باستخدام تراكيز أخرى من 4-NPS.
- 3- استبدال المجموعة المغادرة بمجموعة مغادرة أخرى أكثر نشاطية.

- (10) Kamerlin, S. C. L., (2011), Theoretical Comparison of p-Nitrophenyl Phosphate and Sulfate Hydrolysis in Aqueous Solution: Implications for Enzyme-Catalyzed Sulfuryl Transfer. *Journal of Organic Chemistry*, 76 (22), 9228 – 92238.
- (11) Nikolic-Hughes, I.; Rees, D. C. and Herschlag, D., (2004), Do electrostatic interactions with positively charged active site groups tighten the transition state for enzymatic phosphoryl transfer? *Journal of the American Chemical Society*, 126 (38), 11814-9.
- (12) Kumamoto, J.; Cox, J. R. and Westheimer, F. H., (1956), Barium Ethylene Phosphate. *Journal of the American Chemical Society*, 78 (19), 4858-4860.
- (13) Santos, G. A., (2003), Synthesis and antiviral activity of sulfated and acetylated derivatives of 2beta,3alpha-dihydroxy-5alpha-cholestane. *Steroids*, 68, 125-132.
- (14) Simpson, L. S. and Widlanski, T. S., (2006), A Comprehensive Approach to the Synthesis of Sulfate Esters. *Journal of the American Chemical Society*, 128 (5), 1605-1610.
- (15) Uribe S. and Sampedro J. G., (2003), Measuring Solution Viscosity and its Effect on Enzyme Activity, *Biological Procedures Online*, v.5, 108 – 115.
- (16) Fendler E. J. and Fendler J. H., (1968), Hydrolysis of Nitrophenyl and Dinitrophenyl Sulfate Esters' *The Journal of Organic Chemistry*, Vol. 3, 10.
- (17) Hoff, R. H.; Larsen, P. and Hengge, A. C., (2001), Isotope Effects and Medium Effects on Sulfuryl Transfer Reactions. *Journal of the American Chemical Society*, 123 (38), 9338-9344.
- (18) Platz M. S., Moss R. A. and Jones M., (2007), *Reviews of Reactive Intermediate Chemistry*, John Wiley and Sons, Inc. Hoboken, New Jersey .
- modifying factors: an exclusive and promiscuous relationship. *Human Molecular Genetics*, 14 (21), 3203-3217.
- (3) Kirby, A. J. and Varvoglis, A. G., (1967), The Reactivity of Phosphate Esters. Monoester Hydrolysis. *Journal of the American Chemical Society*, 89 (2), 415-423.
- (4) Kirby, A. J. and Younas, M., (1970), The reactivity of phosphate esters. Diester hydrolysis. *Journal of the Chemical Society B: Physical Organic*, 510-513.
- (5) Babbie, A.; Bandyopadhyay, S.; Olguin, L. and Hollfelder, F., (2009), Efficient Catalytic Promiscuity for Chemically Distinct Reactions. *Angewandte Chemie International Edition*, 48 (20), 3692-3694.
- (6) Benkovic, S. J. and Benkovic, P. A., (1966), Studies on Sulfate Esters. I. Nucleophilic Reactions of Amines with p-Nitrophenyl Sulfate. *Journal of the American Chemical Society*, 88 (23), 5504-5511.
- (7) Hopkins, A.; Day, R. A. and Williams, A., (1983), Sulfate group transfer between nitrogen and oxygen: evidence consistent with an open "exploded" transition state. *Journal of the American Chemical Society*, 105 (19), 6062-6070.
- (8) Denehy, E.; White, J. M. and Williams, S. J., (2006), Ground state structures of sulfate monoesters and sulfamates reveal similar reaction coordinates for sulfuryl and sulfamyl transfer. *Chemical Communications*, (3), 314-316.
- (9) Benkovic, S. J. and Benkovic, P. A., (1966), Studies on Sulfate Esters. I. Nucleophilic Reactions of Amines with p-Nitrophenyl Sulfate. *Journal of the American Chemical Society*, 88 (23), 5504-5511.

The Effect of Changing The Reaction Medium Properties on The Hydrolysis of Activated Model of Sulfate Monoester

*Mohammed S. Sasi

**Abdulfattah M. Alkherraz

*Department of chemistry, Faculty of education, Misratah University,

**Department of chemistry, Faculty of Science, Misratah university,

Email: msasi40@ sci.misuratau.edu.ly

Email: ABDO_7979355176@yahoo.co.uk

Abstract

In this study, an active form of p-nitrophenyl sulfate (4-NPS) was used as a simulation of the biodegradation of mono-ester sulfate, as this substance has suitable properties for following the reaction progress. Sodium hydroxide was used as medium of reaction and quantities of glycerol used to study the effect of changing the natural properties of the medium on the rate of reaction, glycerol was used to change the density and viscosity of the medium as a mimic of the physiological medium, where glycerol was produced from the alkaline and acidic hydrolysis of triglycerides in the blood. This research deals with the hydrolysis of 0.05 mM 4-NPS in a medium of 1M NaOH with changing the percentage of glycerol in each reaction with temperature stabilization at 40°C in all reactions, the UV-vis was used to estimate the rate of reaction by following the increase in the concentration of P-Nitro-phenolate. The obtained results indicated that the rate of reaction speed increased with increasing the percentage of glycerol in the medium of the reaction. Also, the catalytic hydrolysis by hydroxide ion (1M KOH) was studied at different temperatures to find the thermodynamic parameters (entropy and enthalpy) of this reaction.