

TÓM TẮT BÀI BÁO CÁO KHOA HỌC

Sử dụng phổ ^1H NMR để nghiên cứu nhiệt động học của phản ứng thủy phân bis-4-nitrophenyl phosphate xúc tác bởi phức chất Zr^{IV} -substituted Keggin polyoxometalate

Lương Thị Kim Nga

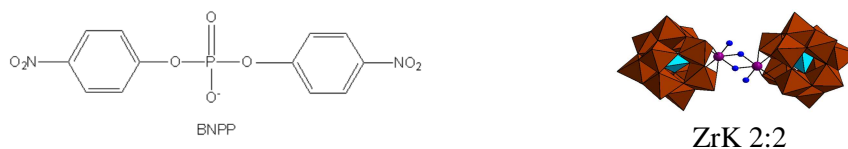
Tóm tắt

Với sự có mặt của Zr^{IV} -substituted Keggin polyoxometalate (POM) $(\text{Et}_2\text{NH}_2)_8[\{\alpha\text{-PW}_{11}\text{O}_{39}\text{Zr}(\mu\text{-OH})(\text{H}_2\text{O})_2\} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (ZrK 2:2), hằng số vận tốc của phản ứng thủy phân bis-4-nitrophenyl phosphate (BNPP, DNA model substrate) là $k_{\text{obs}} = 4.75 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ ở pD 6.4 và 60°C , tăng 320 lần so với khi không có mặt ZrK 2:2. Đồ thị ảnh hưởng của pD đến hằng số vận tốc của phản ứng thủy phân BNPP xúc tác bởi ZrK 2:2 có dạng hình chuông với vận tốc phản ứng nhanh nhất tại pD 6.4. Các đại lượng bao gồm năng lượng hoạt hóa ($E_a = 60.16 \text{ kJ/mol}$), enthalpy ($\Delta H^\ddagger = 57.44 \text{ kJ/mol}$), entropy ($\Delta S^\ddagger = -173.16 \text{ J/mol K}$) và năng lượng tự do Gibbs ($\Delta G^\ddagger = 111.12 \text{ kJ/mol}$ ở 37°C) đã được tính toán. Sự ảnh hưởng của nồng độ ZrK 2:2 lên hằng số tốc độ phản ứng đã được nghiên cứu trong khoảng nồng độ 0.5 mM đến 6.0 mM. Kết quả nghiên cứu cho thấy ZrK 2:2 có khả năng thủy phân một lượng dư BNPP. Điều này minh họa rằng ZrK 2:2 có thể xúc tác cho phản ứng thủy phân liên kết phospho(di)ester. Thêm vào đó, sự ảnh hưởng của sức mạnh ion (ionic strength) đến phản ứng thủy phân BNPP cũng đã được nghiên cứu.

I. Giới thiệu

Các hợp chất như 4-nitrophenyl phosphate¹ (NPP), bis-4-nitrophenyl phosphate^{2, 3} (BNPP, Hình 1) và 2-hydroxypropyl-4-nitrophenylphosphate⁴ (HPNP) thường được sử dụng để đánh giá hoạt tính của phosphatases và nucleases nhân tạo mới vì các hợp chất này có chứa các nhóm tách (leaving group) tốt nên hoạt tính của chúng tăng lên so với các chất nền enzyme tự nhiên. Mặc dù có chứa nhóm tách tốt, BNPP vẫn rất bền với sự thủy phân và có bán sinh (half-life) khoảng 75 năm ở pH 7.0 và 50°C , khoảng 2000 years ở pH 9.2 và 25°C .

Trong nghiên cứu này hoạt tính xúc tác của ZrK 2:2 (Hình 1) được nghiên cứu trên phản ứng thủy phân hợp chất BNPP bằng phổ ^1H NMR. ZrK 2:2 có chứa 2 nguyên tử kim loại và có các phía liên kết trống (free coordination sites) để tạo nối và hoạt hóa chất nền và chất thân hạch. Các nghiên cứu trước đây đã chứng minh rằng ZrK 2:2 cũng xúc tác hiệu quả cho sự thủy phân liên kết amine trong các peptide và protein và đã minh họa rằng ZrK 2:2 có khả năng xúc tác như là xúc tác axit Lewis hiệu quả.

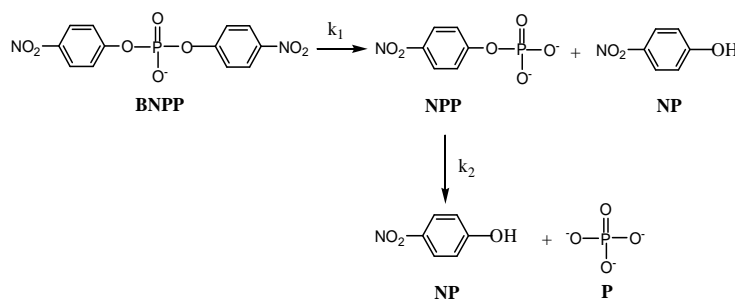


Hình 1. Cấu trúc của BNPP và ZrK 2:2. Các nhóm WO_6 : màu cam, các nhóm PO_4 : màu xanh da trời, Zr^{IV} màu tím, các phân tử H_2O và các nhóm OH : màu xanh dương.

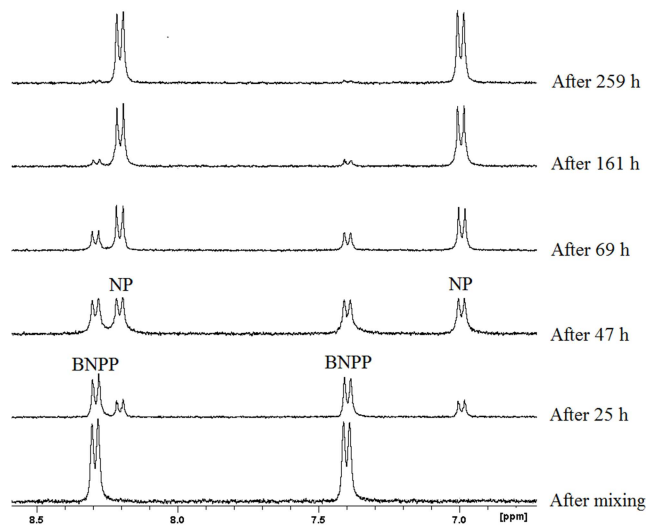
II. Nội dung

1. Phổ ^1H NMR của BNPP khi có mặt chất xúc tác ZrK 2:2²

Phản ứng thủy phân của BNPP (Sơ đồ 1) xúc tác bởi ZrK 2:2 được khảo sát trong dung dịch chứa BNPP 1.0 mM và ZrK 2:2 1.0 mM. Trong quá trình phản ứng ở pH 6.4 và 60 °C, phổ ^1H NMR (Hình 2) cho thấy cường độ tín hiệu của BNPP tại 7.33 ppm và 8.24 ppm giảm dần và cường độ tín hiệu của nitro phenol (NP) tại 8.19 ppm and 6.96 ppm tăng dần. Điều này chứng tỏ sự thủy phân của liên kết P-O trong BNPP đã xảy ra. Sau phản ứng thủy phân, tín hiệu của BNPP không được còn thấy trên phổ ^1H NMR và ^{31}P NMR nữa chứng tỏ rằng BNPP đã chuyển hóa hoàn toàn thành NP và phosphate (P).



Sơ đồ 1. Sự thủy phân của BNPP.



Hình 2. Phổ ^1H NMR của phản ứng thủy phân BNPP 1.0 mM xúc tác bởi ZrK 2:2 1.0 mM ở các thời điểm phản ứng khác nhau tăng dần (pH 6.4 và 60 °C).

2. Cách tính hằng số vận tốc phản ứng của phản ứng thủy phân BNPP dựa vào phổ $^1\text{H NMR}^2$

Lấy tích phân cường độ tín hiệu cộng hưởng của BNPP và NP tại các thời điểm phản ứng tăng dần giúp tính được hằng số tốc độ phản ứng. Phương pháp xây dựng đường thẳng dựa vào biểu thức $\ln[A] = k_{\text{obs}}t + \ln[A]_0$ với $[A]$ là nồng độ của BNPP tại thời điểm t được sử dụng để tính toán hằng số vận tốc phản ứng của phản ứng thủy phân BNPP tại pD 6.4 và 60°C là $4.75 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ ($t_{1/2} = 40.5 \text{ h}$). Giá trị này cho thấy vận tốc phản ứng tăng 320 lần so với phản ứng thủy phân BNPP khi không có mặt ZrK 2:2 ($k_{\text{obs}} = 1.5 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$) trong cùng điều kiện phản ứng.

3. Sử dụng phổ $^1\text{H NMR}$ để khảo sát các yếu tố gồm pH, nồng độ, nhiệt độ, sức mạnh ion (ionic strength) ảnh hưởng đến phản ứng thủy phân của BNPP xúc tác bởi ZrK 2:2.²

a. Ảnh hưởng của pD:

Sự ảnh hưởng của pD đến phản ứng thủy phân BNPP khi có mặt và vắng mặt ZrK 2:2 được khảo sát trong khoảng pD từ 3.4 đến 10.4 ở nhiệt độ 60°C . Trong khoảng pD này khi vắng mặt của ZrK 2:2 thì BNPP không bị thủy phân sau 3 tháng. Đồ thị của sự ảnh hưởng của pD lên phản ứng thủy phân BNPP xúc tác bởi ZrK 2:2 có dạng hình chuông với vận tốc phản ứng nhanh nhất ở pD 6.4.

b. Ảnh hưởng của nồng độ:

Sự ảnh hưởng của nồng độ ZrK 2:2 đến phản ứng thủy phân BNPP được nghiên cứu trong hỗn hợp phản ứng chứa BNPP với nồng độ không đổi là 1.0 mM và tăng dần nồng độ của ZrK 2:2 từ 0.5 mM đến 6.0 mM ở pD 6.4 và 60°C . Kết quả thí nghiệm cho thấy sự thủy phân hoàn toàn BNPP vẫn diễn ra khi BNPP 1.0 mM và ZrK 2:2 0.5 mM được sử dụng, chứng tỏ rằng 1 đương lượng ZrK 2:2 có thể thủy phân ít nhất 2 đương lượng BNPP. Điều này đã minh họa được một trong những nguyên tắc của chất xúc tác.

c. Ảnh hưởng của nhiệt độ:

Sự ảnh hưởng của nhiệt độ đến tốc độ phản ứng thủy phân BNPP được nghiên cứu trong dung dịch hỗn hợp gồm BNPP và ZrK 2:2 có cùng nồng độ là 1.0 mM ở pD 6.4 trong khoảng nhiệt độ 37°C đến 80°C . Dựa vào các biểu thức (1) và (2) năng lượng hoạt hóa của phản ứng khi có mặt ZrK 2:2 được tính toán là $E_a = 60.16 \text{ kJ/mol}$, thấp hơn rất nhiều so với năng lượng hoạt hóa khi không có mặt ZrK 2:2 (121.59 kJ/mol)⁵⁻⁷ trong cùng điều kiện phản ứng. Enthalpy $\Delta H^\ddagger = 57.44 \text{ kJ/mol}$ và entropy $\Delta S^\ddagger = -173.16 \text{ J/mol K}$ cũng đã được tính toán. Giá trị entropy âm chứng tỏ entropy giảm do sự tạo phức giữa BNPP và/ hoặc NPP với ZrK 2:2. Sau cùng năng lượng tự do Gibbs (ΔG^\ddagger) được tính là 111.12 kJ/mol ở 37°C .

$$\text{Arrhenius equation: } \ln k_{\text{obs}} = \ln A - \frac{E_a}{R} \frac{1}{T} \quad (1)$$

$$\text{Eyring equation: } \ln \frac{k_{\text{obs}}}{T} = \frac{-\Delta H^\ddagger}{R} \frac{1}{T} + \ln \frac{k_b}{h} + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} \quad (2)$$

với R là hằng số khí, $k_b = 1.38 \times 10^{-23} \text{ J/K}$ là hằng số Boltzmann $h = 6.626 \times 10^{-34} \text{ J/s}$ là hằng số Planck.

d. Ảnh hưởng của sức mạnh ion (ionic strength):

Việc thêm muối vào các phản ứng chứa ion có thể ảnh hưởng nhiều hoặc không ảnh hưởng đến vận tốc phản ứng. Cả hai ZrK 2:2 và BNPP đều mang điện tích âm ở pD 6.4, sự ảnh hưởng của sức mạnh ion đến vận tốc của phản ứng thủy phân BNPP được nghiên cứu bằng cách cho từ NaClO_4 vào hỗn hợp phản ứng chứa BNPP 1.0 mM và ZrK 2:2 1.0 mM. Kết quả thí nghiệm cho thấy hằng số vận tốc giảm mạnh khi tăng lượng muối NaClO_4 . Các thí nghiệm kiểm chứng với lacunary POM chứng tỏ rằng Zr^{IV} quan trọng cho hoạt tính xúc tác của ZrK 2:2. Sự liên kết giữa ZrK 2:2 và BNPP xuất hiện thông qua việc tạo phức giữa oxy mang điện tích âm của BNPP và ion Zr^{IV} mang điện tích dương của ZrK 2:2. Việc thêm muối NaClO_4 vào đã làm cản trở sự tương tác này, dẫn đến vận tốc phản ứng giảm.

III. Kết luận

Phổ ^1H NMR rất hữu ích trong việc nghiên cứu nhiệt động lực học của phản ứng thủy phân BNPP. Các thí nghiệm nghiên cứu nhiệt động học trong nghiên cứu này đã minh họa rằng ZrK 2:2 có thể xúc tác cho phản ứng thủy phân các liên kết phospho(di)ester trong hợp chất model DNA là BNPP. Nghiên cứu này đã minh họa tiềm năng của các phức chất Zr^{IV} -substituted POMs như là các phosphatases nhân tạo và đóng góp cho sự phát triển xa hơn của POMs như là xúc tác axit Lewis cho phản ứng thủy phân các phân tử sinh học.

Tài liệu tham khảo

1. T. K. N. Luong, P. Shestakova and T. N. Parac-Vogt, *Dalton Transactions*, 2016, **45**, 12174-12180.
2. T. K. N. Luong, G. Absillis, P. Shestakova and T. N. Parac-Vogt, *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2014, **2014**, 5276-5284.
3. T. K. N. Luong, P. Shestakova, T. T. Mihaylov, G. Absillis, K. Pierloot and T. N. Parac-Vogt, *Chemistry – A European Journal*, 2015, **21**, 4428-4439.
4. T. K. N. Luong, G. Absillis, P. Shestakova and T. N. Parac-Vogt, *Dalton Transactions*, 2015, **44**, 15690-15696.
5. J. Chin, M. Banaszczyk, V. Jubian and X. Zou, *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, **111**, 186-190.
6. P. S. Low, J. L. Bada and G. N. Somero, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1973, **70**, 430-432.
7. L. M. M. Tijsskens, M. L. A. T. M. Hertog and B. M. Nicolai, *Journal*, 2001, 47.