

مطالعه برهم کنش بین پلی آنیلین کایرال بارگذاری شده با اسید آمینه و ماکرو مولکول زیستی DNA و بررسی ویژگی فلئورتابی کمپلکس پلی آنیلین چند یونی سنتز شده

فاطمه شاه کرمی^۱، بنفشه گرگی^۲ و رضا زادمرد^{۳*}

۱- کارشناس ارشد شیمی آلی، گروه شیمی، واحد تهران جنوب، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- استادیار شیمی آلی، گروه شیمی، واحد تهران جنوب، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳- دانشیار شیمی آلی، پژوهشکده علوم و فناوری‌های نوین، پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران، تهران، ایران

دریافت: آذر ۱۳۹۴، بازنگری: بهمن ۱۳۹۴، پذیرش: اسفند ۱۳۹۴

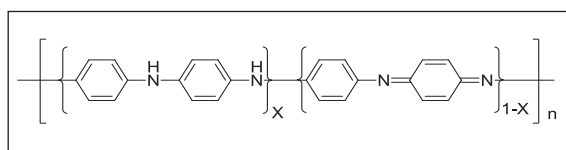
چکیده: در این مطالعه پلی آنیلین کایرال بهینه شده با اسیدهای آمینه سنتز و در ادامه برهم کنش آن با DNA مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور در ابتدا با بکارگیری روشی ساده و کارآمد نانو ذرات پلی آنیلین بارگذاری شده با اسید آمینه آلانین (کوچکترین اسید آمینه کایرال طبیعی) تهیه شد. شناسایی ساختار سنتز شده به روش‌های متفاوت مانند طیف‌سنجی FT-IR، NMR، تجزیه عنصری و همچنین ریخت شناسی نانو ذرات پلی آنیلین به وسیله تصویرهای میکروسکوپ الکترونی SEM مورد مطالعه قرار گرفت. درصد بارگذاری تولید نیز با تیتراژ اندازه‌گیری شد. سپس برهم کنش ساختارهای پلی آنیلین سنتز شده با زنجیره‌های کوتاه الیگوسفاتی DNA (حاوی ۴۵ جفت باز) از طریق طیف‌سنجی فلئورتابی مورد بررسی قرار گرفت.

واژه‌های کلیدی: پلی آنیلین، اسید آمینه، فلئورتابی، DNA

مقدمه

فیزیکی پلی آنیلین مؤثر است. با توجه به درجه اکسایش نیتروژن پلی آنیلین به سه حالت متمایز به‌طور کامل کاهش یافته ($x = 1$) لوکومرالدین باز (LB)^۱، حالت نیمه اکسایش یافته ($x = 0.5$) امرالدین باز (EB)^۲ و حالت به‌طور کامل اکسایش یافته ($x = 0$) پرنیگرانیلین باز (PB)^۳ وجود دارد [۱ و ۲].

در دهه‌های اخیر به دلیل رشد چشم‌گیر علاقه به سنتز بسپارهای رسانای کایرال پژوهش‌های گسترده‌ای بر روی پلی آنیلین صورت گرفته است. پلی آنیلین یکی از مهم‌ترین بسپارهای رسانا است که در نتیجه پیوند متوالی واحدهای تک‌پار آنیلین در زنجیره بسپار به وجود می‌آید. ساختار پلی آنیلین همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود شامل واحدهای تکرار شونده کاهش یافته فنیل دی‌آمین و اکسید شده کینوئید دی‌ایمین است. حضور اتم نیتروژن در حلقه‌های فنیل باعث تشکیل حالات اکسایش متفاوتی می‌شود که در ویژگی



شکل ۱ ساختار تک‌پار پلی آنیلین

1. Leucoemeraldine Base (LB)

2. Emeraldine Base (EB)

3. Pernigraniline Base (PB)

عادی یافت می‌شوند و به‌طور کلی از پنج پروتئین متفاوت تشکیل یافته‌اند (H_1 ، H_{2A} ، H_{2B} ، H_3 ، H_4). از آن‌جایی که طول DNA صدها هزار بار بیشتر از قطر یک سلول است، فشردگی DNA حائز اهمیت است. واحدهای قلبیایی یعنی لایزین و آرژنین در هیستون H_1 نزدیک انتهای کربوکسی آن و در سایر هیستون‌ها در بخش انتهای آمینی آن متمرکز شده‌اند. در pH فیزیولوژیک که هیستون‌ها دارای بار مثبت شدید هستند، پیوند یونی بین انتهای قلبیایی مولکول‌های هیستون (H_1) از ناحیه انتهای کربوکسی و بقیه از ناحیه انتهای آمین) و بارهای منفی گروه فسفات DNA برقرار شده و باعث پیوند سریع و پایدار هیستون‌ها به DNA می‌شود. در نهایت پیچ خوردن DNA به دور هیستون‌ها موجب فشردگی DNA و ایجاد نوکلئوزوم می‌شود [۲۳ و ۲۴].

پلی‌آمین‌ها، آمین‌های خطی با وزن مولکولی پایین هستند که قابلیت انحلال در آب را دارند. این ترکیبات دارای pKa در حدود ۱۰ بوده و در pH فیزیولوژیکی به‌صورت پلی‌کاتیون حضور دارند. به‌همین دلیل برهم‌کنش‌های قوی آنیونی-کاتیونی با ماکرومولکول‌های آنیونی از قبیل DNA و RNA دارند. [۲۵] رایج‌ترین پلی‌آمین‌ها در سلول‌های زنده دی‌آمین پوترسین^۱، تری‌آمین اسپرمیدین^۲ و تتراآمین اسپرمین^۳ است. پلی‌آمین‌ها توانایی ایجاد تغییر در ساختار DNA را دارند. سازوکار مولکولی متراکم کردن DNA با پلی‌آمین‌ها، شامل خنثی‌سازی اسکلت باردار منفی DNA به‌وسیله گروه‌های آمین باردار مثبت اسپرمین و اسپرمیدین است. مطالعه‌های پیوند پلی‌آمین‌ها با DNA یک مدل پیوندی را شامل برهم‌کنش‌های غیرویژه الکترواستاتیک بین فسفات‌های DNA و پلی‌آمین‌های کاتیونی نشان می‌دهند. در مورد برهم‌کنش پلی‌آمین‌ها با DNA تاکنون چندین مدل پیشنهاد شده است که این مدل‌ها همیشه با هم در توافق نبوده‌اند. مدلی که در مورد آن به‌عنوان نخستین سازوکار برهم‌کنش اتفاق نظر وجود دارد، ماهیت الکترواستاتیک برهم‌کنش است [۲۶]. اگرچه بسیاری نویسندگان بر اثرات الکترواستاتیک تأکید دارند ولی به‌نظر می‌رسد که این اثر به‌تنهایی نمی‌تواند برهم‌کنش پلی‌آمین-DNA

پلی‌آنیلین به دلیل ویژگی‌هایی مانند سنتز آسان، قیمت پایین و بازده بالای سپارش از جمله رایج‌ترین و پرکاربردترین سپارهای رساناست که دارای پایداریت محیطی بالا و ویژگی‌های الکتریکی، الکتروشیمیایی و نوری است [۳ و ۴]. اما کاربردهای صنعتی آن به‌دلیل فقر حلالیت در اکثر حلال‌های رایج آلی و نداشتن نقطه ذوب که ناشی از سختی و انعطاف ناپذیری زنجیره اصلی بسیار و پیوند هیدروژنی قوی میان رشته‌های پلیمری مجاور (به‌علت وجود سامانه الکترونی π مزدوج قوی) است، با محدودیت‌هایی رو به رو است [۵]. از این رو، برای اصلاح ساختار و بهبود فرایندپذیری می‌توان با استفاده از واکنش‌هایی از قبیل واکنش جانشینی الکترون دوستی بر روی حلقه آروماتیک و هسته دوستی ساختار پلی‌آنیلین را بهینه کرد [۶]. پروتون دار کردن پلی‌آنیلین با استفاده از اسیدهای آلی مانند پارا تولوئن سولفونیک اسید (PTSA)، دودسیل بنزن سولفونیک اسید (SSA) و کامفورسولفونیک اسید (CSA) که سبب ایجاد نمک پلی‌آنیلین سولفون دار شده (SPAN) می‌شود از جمله این روش‌ها است [۷ و ۸].

سپارهای رسانای فعال نوری به دلیل کاربرد گسترده‌شان در تجزیه فضاگزين [۹ تا ۱۱]، تفکیک کایرال [۱۲] و حسگرهای شیمیایی و زیست شیمیایی [۱۳ و ۱۴] بسیار مورد توجه هستند. پلی‌آنیلین‌های کایرال را می‌توان با اکسایش شیمیایی معرفی کایرال [۱۵ تا ۱۸] یا از طریق سپارش الکتروشیمیایی [۱۹ و ۲۰]، سپارش فاز بخار شیمیایی [۲۱] و یا کمپلکس کردن با ترکیب‌های کایرال پالادیم [۲۲] تهیه کرد که در روش آخر آنیون‌های کایرال به‌عنوان عامل پروتون‌دارکننده ضدیون به زنجیره اصلی پلی‌آنیلین از طریق برهم‌کنش‌های الکترواستاتیک یا پیوند هیدروژنی متصل می‌شوند.

مطالعه‌ی برهم‌کنش ترکیب‌های متفاوت با DNA از اهمیت بالایی برخوردار است. برای مثال، هیستون‌ها گروهی از پروتئین‌های تشکیل‌دهنده ساختار کروماتین سلولی هستند که دارای مقدار بالایی از اسیدهای آمینه قلبیایی مانند لایزین^۱ یا آرژنین^۲ هستند. این پروتئین‌ها به تقریب در تمام سلول‌های

1. Lysine

2. Arginine

3. Putrescine

4. Spermidine

5. Spermine

نانو با کاهش اندازه‌ی ذرات و در نتیجه افزایش نسبت سطح به حجم نانو ذرات واکنش پذیری آن‌ها به شدت افزایش می‌یابد، به همین دلیل از نانو ذرات پلی‌آنیلین به عنوان بستر استفاده شده است. پس از بررسی پژوهش‌های مشابه انجام شده که برای القای کایرالیت به پلی‌آنیلین با ساختارهای (S)-ناپروکسن [۳۹] و (R)-(-)-۱۰-کامفورسولفونیک اسید [۳۱] بارگذاری شده بود، اسید آمینه به زنجیره عرضی پلی‌آنیلین متصل شد. به منظور پیوند بهتر و کاهش ازدحام فضایی، اسید آمینه (L)-آلانین (کوچک‌ترین اسید آمینه کایرال در طبیعت) مورد استفاده قرار گرفت. از آنجایی که اسیدهای آمینه دو گروه عاملی فعال اسیدی و آمینی برای شرکت در واکنش دارند، برای جلوگیری از واکنش هم‌زمان هر دو گروه، انتهای آمینی اسید آمینه با گروه محافظت کننده‌ی بنزیل کلروفورمات محافظت شد و سپس برای پروتون‌دار کردن مورد استفاده قرار گرفت. سپس در مرحله آخر برهم‌کنش نمک پلی‌آنیلین سنتز شده با زنجیره‌های کوتاه الیگوفسفاتی DNA از طریق طیف سنجی فلورئوتابی مورد بررسی قرار گرفت.

بخش تجربی

مواد

آنیلین دو بار تقطیر شده، پتاسیم پرسولفات، هیدروکلریک اسید، تتراهیدروفوران خشک، دی‌ایزوپروپیل اتیل آمین، دی‌سیکلوهگزیل کربودی‌ایمید، بنزیل اکسی کربونیل آلانین (Z-Ala)، زنجیره DNA حاوی ۴۵ جفت باز، بافر هپس.

دستگاه‌ها

طیف سنج فروسرخ (Bruker, IFS 48)، طیف سنج فلورئوتابی (Jasco FP-6500)، میکروسکوپ الکترونی روبشی (Lecia Cambridge S 360)، تجزیه‌گر عنصری (Quest-Eash EA1112)، طیف سنج رزونانس مغناطیسی هسته (Bruker, 50(MHz) سانتریفیوژ (Universal 320).

را شرح دهد. مطالعه‌ها بیشتر روی ترکیب‌های مشابه پلی‌آمین افزون بر اثرات الکتروستاتیک، وجود خواص ساختاری ویژه‌ای را برای کمپلکس DNA-پلی‌آمین نشان داده است. مطالعات به وسیله پراش پرتو X نشان دادند که مولکول‌های پلی‌آمین می‌توانند در طول حفره‌های بزرگ یا کوچک DNA قرار بگیرند، بنابراین اجازه برهم‌کنش با بازهای DNA را می‌یابند [۲۷]. افزون بر پلی‌آمین‌ها، بر هم‌کنش پروتئین‌ها با DNA نیز از اهمیت قابل توجهی برخوردار است [۲۸]. پروتئین‌ها نواحی ویژه‌ای برای اتصال با DNA دارند و به طور معمول از طریق قرارگیری در حفره‌ی بزرگ یا به عبارت بهتر با برقراری پیوندهای هیدروژنی با جفت بازهای رشته‌های DNA تعامل دارند [۲۹ و ۳۰].

برهم‌کنش‌های میان DNA و سایر ترکیب‌ها با استفاده از روش‌های متفاوت قابل بررسی است که انتخاب آن بستگی به ماهیت ترکیبات متفاوت دارد. در این مطالعه برهم‌کنش رشته‌های DNA با پلی‌آنیلین و مشتق‌های بهینه شده آن با اسیدهای آمینه، از طریق تغییر در مقدار شدت نشر نور فلورئوتابی مورد بررسی قرار می‌گیرد.

از آنجایی که اسیدهای آمینه ترکیب‌های کایرال طبیعی و دارای گروه‌های عاملی اسیدی، آمینی و نیز هتروسیکلی هستند، می‌توانند با برقراری پیوند از ناحیه گروه COOH به پلی‌آنیلین متصل شوند که در این صورت اسیدآمینه کایرال سبب القای ویژگی‌های نور کایرالی^۱ به پلی‌آنیلین می‌شود [۳۱ تا ۳۳].

نمک رسانای پلی‌آنیلین یک پلی‌رادیکال آماده برای واکنش با پلی‌یون‌ها است [۳۴]. برقراری پیوند الکتروستاتیک میان پلی‌آنیلین و پلی‌یونی مانند DNA سبب ایجاد کمپلکس پلی‌آنیلین-پلی‌یون (PANI-PICs) می‌شود که می‌تواند به عنوان ساختاری هوشمند در الکترونیک به ویژه برای ساخت حسگرهای زیستی مانند حسگرهای شناسایی کننده قطعات مکمل پروتئین یا پلی‌نوکلئوتید مورد استفاده قرار گیرد [۳۵].

در این مطالعه بعد از بررسی روش‌های صورت گرفته برای سنتز نانو ذرات [۱۵ تا ۲۲، ۳۷ و ۳۸]، نخست نانو ذرات پلی‌آنیلین به روشی ساده‌تر سنتز شدند. از آنجایی که در فناوری

روش‌ها

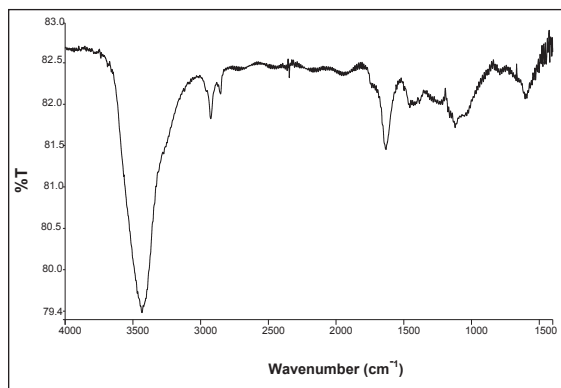
سنتز نانو ذرات پلی‌آنیلین (EB): در یک بالون ۲۵۰ میلی‌لیتری ۲٫۵ گرم (۹٫۲۵ میلی‌مول) پتاسیم پرسولفات در ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول هیدروکلریک اسید ۱ مولار، حل گردید و دمای ظرف واکنش توسط حمام یخ بین ۰ تا -4°C تنظیم شد (محلول اکسند). در مدت زمان یک ساعت ۲ میلی‌لیتر آنیلین دو بار تقطیر شده به‌طور یکنواخت همراه با هم زدن به محلول اکسند افزوده شد. با افزایش آنیلین، رنگ محلول از صورتی به سبز تغییر کرد که نشان دهنده شروع واکنش بسپارش بود. افزون بر آن گرانی محلول افزایش یافت. سپس مخلوط غلیظ واکنش به مدت ۵ ساعت در همان دما هم زده شد. پس از پایان زمان واکنش، جامد سبز رنگ به دست آمده با قیف بوختر صاف و با آب مقطر و متانول تا بی‌رنگ شدن محلول زیر صافی شست‌وشو داده شد. سپس رسوب به دست آمده با آمونیاک ۳٪ شست‌وشو شد (به مدت ۳ ساعت در دمای اتاق به هم زده شد) تا فرآورده خنثی تولید شود. سپس نانو ذرات پلی‌آنیلین (EB) با آب و استون شست‌وشو داده شد و در پایان رسوب در آن در دمای 70°C خشک شد.

بارگذاری نانو ذرات پلی‌آنیلین با اسید آمینه: در یک بالن دو دهانه ۱۵ میلی‌لیتری متصل به جریان گاز نیتروژن ۰٫۱۸ گرم (۰٫۸ میلی‌مول) Z-Ala در ۵ میلی‌لیتر تتراهیدرو فوران خشک حل شد و سپس ۰٫۱۴ میلی‌لیتر (۰٫۸ میلی‌مول) باز دی‌ایزوپروپیل اتیل آمین افزوده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط هم زده شد. در ادامه ۱۲۴ میکرولیتر (۰٫۸ میلی‌مول) معرف پیوند دهنده DCC به آن افزوده شد و دوباره هم زدن به مدت یک ساعت ادامه یافت. سپس ۰٫۱ گرم پلی‌آنیلین EB (معادل ۰٫۵۵ میلی‌مول NH آزاد) به محتویات بالون افزوده شد و به مدت ۱۸ ساعت زمان داده شد تا در دمای محیط واکنش کامل شود. بعد از اتمام واکنش، رسوب سیاه رنگ به دست آمده با قیف بوختر صاف و سپس با استون به مدت ۶ ساعت به وسیله سوکسله به‌منظور خروج کامل واکنشگرهای واکنش نداد به‌ویژه DCC شست‌وشو داده شد. سرانجام فرآورده در آن در دمای 70°C خشک شد.

نتیجه‌ها و بحث

شناسایی

شکل ۲، طیف FT-IR نانو ذرات پلی‌آنیلین (EB) را نشان می‌دهد. در این طیف جذب 3430 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی NH، جذب 2924 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی CH حلقه آروماتیک، جذب گستره‌ی 1634 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کینویدی، جذب 1450 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات بنزویدی، جذب موجود در 1120 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی C-N و جذب موجود در ناحیه 696 cm^{-1} مربوط به CH خمشی خارج از صفحه حلقه آروماتیک است.

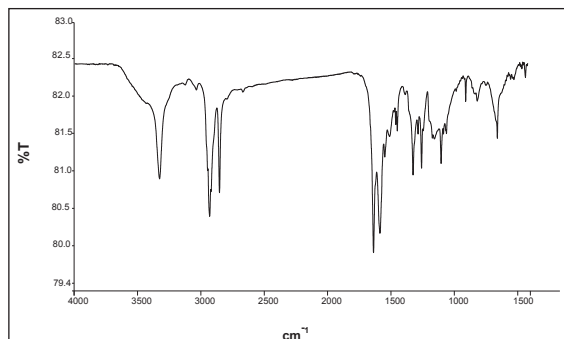


شکل ۲ IR نانو ذرات پلی‌آنیلین (EB)

شکل ۳ طیف $^1\text{H-NMR}$ نانو ذرات پلی‌آنیلین (EB) را نشان می‌دهد. در این طیف، پیک در ناحیه ۵٫۷۹ تا ۵٫۸۱ ppm مربوط به پروتون‌های NH پلیمر، پیک در ناحیه ۶٫۷۴ تا ۷٫۲۵ ppm مربوط به پروتون‌های حلقه بنزویدی، پیک در ناحیه ۷٫۳۷ تا ۷٫۴۶ ppm مربوط به پروتون‌های حلقه کینویدی و پیک در ناحیه ۹٫۳۰ ppm مربوط به پروتون‌های آب پیوند داده با گروه NH^+ است.

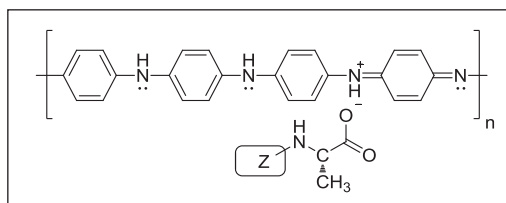
شکل ۴ تصویرهای SEM پلی‌آنیلین سنتز شده را نشان می‌دهد، در این تصویرها اندازه نانو ذرات پلی‌آنیلین به طور تقریبی حدود ۳۰ تا ۵۰ نانومتر برآورد شده است که بیانگر ابعاد نانو ساختار پلی‌آنیلین است.

جذب موجود در 1625 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی $\text{C}=\text{O}$ اسید آمینه، جذب 1574 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات حلقه کینویدی، 1436 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات حلقه بنزویدی، جذب موجود در 1311 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی $\text{C}-\text{O}$ و جذب موجود در 1242 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی $\text{C}-\text{N}$ است.



شکل ۵ طیف FT-IR ساختار پلی آنیلین کایرال بهینه شده با اسید آمینه

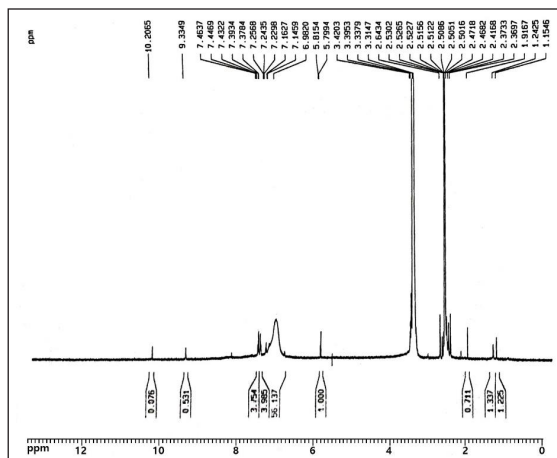
درصد عناصر موجود در هر واحد تکرارشونده پلی آنیلین کایرال بهینه شده با اسید آمینه با فرمول $\text{C}_{35}\text{H}_{32}\text{N}_5\text{O}_4$: ۷۱٫۷۷٪ عنصر C، ۵٫۵۵٪ عنصر H، ۱۱٫۹۵٪ عنصر N و ۱۰٫۹٪ عنصر O است که براساس نتیجه‌های تجزیه عنصری CHN درصد عناصر برای نانو ذرات پلی آنیلین سنتز شده ۶۸٫۸۰٪ عنصر C، ۷٫۱۶٪ عنصر H، ۱۲٫۰۴٪ عنصر N و ۱۱٫۸۸٪ عنصر O محاسبه شده است. مقایسه طیف‌های FT-IR پلی آنیلین پیش و پس از بارگذاری، نشان دهنده پیوند اسید آمینه به نانو ذرات پلی آنیلین و ایجاد پلی آنیلین کایرال بهینه شده با اسید آمینه مطابق شکل ۶ است.



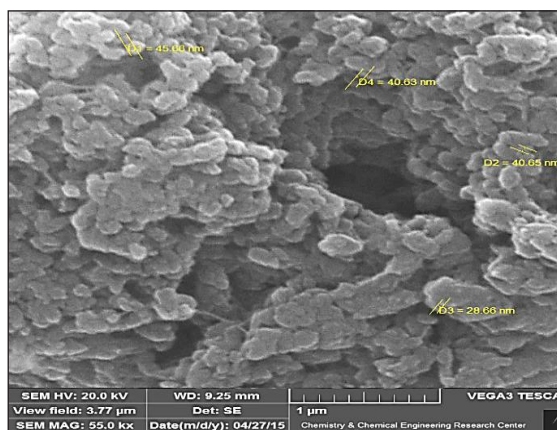
شکل ۶- ساختار پلی آنیلین کایرال بهینه شده با اسید آمینه

تعیین درصد باگذاری به روش تیتراسنجی

به‌منظور بررسی و تعیین Hهای اسیدی در ساختار نمک



شکل ۳ طیف $^1\text{H-NMR}$ نانو ذرات پلی آنیلین (EB)



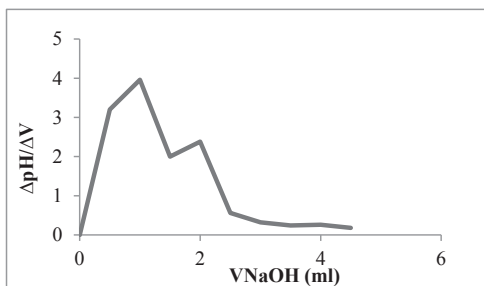
شکل ۴ تصویرهای SEM نانو ذرات پلی آنیلین (EB)

درصد عناصر موجود در هر واحد تکرارشونده پلی آنیلین (EB) با فرمول $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{N}_4$: ۷۹٫۵۶٪ عنصر C، ۴٫۹۷٪ عنصر H، ۱۵٫۴۷٪ عنصر N است که براساس نتیجه‌های تجزیه عنصری CHN درصد عناصر برای نانو ذرات پلی آنیلین سنتز شده ۸۲٫۷۰٪ عنصر C، ۴٫۱۵۹٪ عنصر H و ۱۰٫۹۴٪ عنصر N محاسبه شده است.

شکل ۵، طیف FT-IR ساختار پلی آنیلین کایرال بهینه شده با اسید آمینه را نشان می‌دهد. در این طیف جذب 3326 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی NH ، جذب‌های 2928 cm^{-1} و 2850 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی CH حلقه آروماتیک،

مصرف شده تیترانت با آنالیت برابر است و حجم سود (۰٫۰۱ مولار) مصرفی در نقطه هم ارزی برابر با ۳ میلی‌لیتر است؛ پس می‌توان نتیجه گرفت که تعداد اکی‌والان H⁺های اسیدی در ۰٫۰۱ گرم پلی‌آنیلین برابر با ۰٫۰۳ میلی‌مول است.

در مرحله بعد جهت تعیین درصد بارگذاری Z-Ala بر روی نانو ذرات پلی‌آنیلین به روش تیتراژ پتانسیومتری سوسپانسیونی از ۰٫۰۱۵ گرم نمک کایرال پلی‌آنیلین بهینه شده با اسید آمینه در ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد. سپس با محلول سود ۰٫۰۱ نرمال تیتراژ پتانسیومتری انجام شد که مطابق شکل ۹ حجم سود (۰٫۰۱ مولار) مصرفی در نقطه هم ارزی برابر با ۲ میلی‌لیتر است؛ پس تعداد اکی‌والان H⁺های اسیدی در ۰٫۰۱۵ گرم نمک مذکور برابر با ۰٫۰۲ میلی‌مول است. در حالی که بر طبق نتیجه‌های تیتراژ نمک پلی‌آنیلین تعداد اکی‌والان H⁺های اسیدی در مقدار معادل پلی‌آنیلین برابر با ۰٫۰۳ میلی‌مول است. از آن جایی که کاهش تعداد اکی‌والان H⁺های اسیدی در پلی‌آنیلین کایرال بهینه شده مربوط به جانشین شدن Z-Ala با H⁺های اسیدی در پلی‌آنیلین است، پس لازم است برای محاسبه درصد بارگذاری، حاصل تفاضل اکی‌والان H⁺های اسیدی پلی‌آنیلین و اکی‌والان H⁺های اسیدی پلی‌آنیلین کایرال بهینه شده را بر اکی‌والان H⁺های اسیدی پلی‌آنیلین تقسیم کرده که در این صورت درصد بارگذاری برابر با ۳۳٪ خواهد بود.

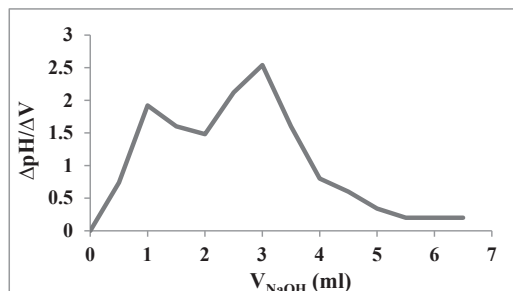


شکل ۹ نمودار تغییرات pH نسبت به تغییرات حجم برحسب حجم تیتراژ مصرف شده

بررسی برهم‌کنش DNA با ساختارهای نانو پلی‌آنیلین و پلی‌آنیلین کایرال بهینه‌شده با اسید آمینه

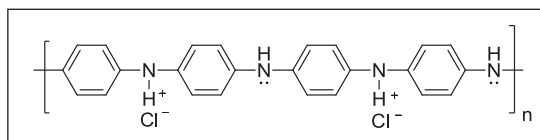
N⁺های پلی‌آنیلین می‌توانند برهم‌کنشی الکتروستاتیک با

پلی‌آنیلین روش تیتراژ پتانسیومتری به کار گرفته شد. لازم به یادآوری است که تیتراژ حالت نمکی پلی‌آنیلین که ساختاری سخت و نامحلول در اکثر حلال‌های رایج آلی دارد، تیتراژ برگشتی (معکوس) است چرا که بیشتر برای آنالیت‌های انحلال‌ناپذیر این نوع تیتراژ به کار گرفته می‌شود. طی تیتراژ، محلول قلیایی سود با آنالیت اسیدی (نمک پلی‌آنیلین) واکنش داده و به تدریج از غلظت H⁺ آنالیت کاسته می‌شود. در نتیجه pH محیط به سمت محیط خنثی و سپس قلیایی پیش می‌رود. برای این منظور در ابتدا سوسپانسیونی از ۰٫۰۱ گرم نمک پلی‌آنیلین در ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد (آنالیت اسیدی) و سپس آنالیت با سود ۰٫۰۱ نرمال (تیتراژ) تیتراژ شد و pH محیط در هر مرحله ثبت شد. برای تعیین نقطه هم‌ارزی مطابق شکل ۷ از نمودار تغییرات pH نسبت به تغییرات حجم برحسب حجم تیتراژ مصرف شده استفاده شد.



شکل ۷ نمودار تغییرات pH نسبت به تغییرات حجم برحسب حجم تیتراژ مصرف شده

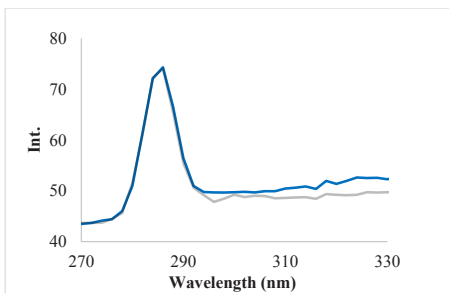
به دلیل آنکه نمک پلی‌آنیلین (ES) اسیدی دو ظرفیتی است، نمودار فوق دارای دو نقطه هم ارزی است که به ترتیب نقاط اول و دوم مربوط به هیدروژن‌های NH⁺ و هیدروژن‌های NH⁺ در ساختار نمک پلی‌آنیلین (مطابق شکل ۸) هستند [۴۰].



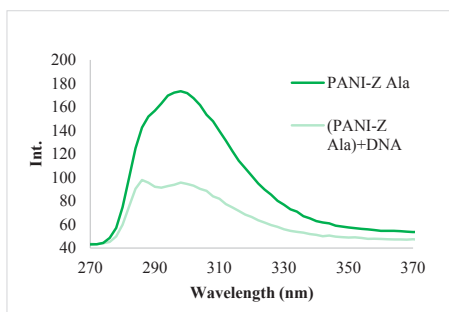
شکل ۸- ساختار نمک پلی‌آنیلین

با توجه به این‌که در نقطه هم ارزی تعداد اکی‌والان‌های

فلوئورتابی هر یک از ساختارها در حضور و عدم حضور DNA با هم مقایسه شده است.



شکل ۱۰ مقایسه شدت فلوئورتابی نانو ذرات پلی آنیلین در حضور و عدم حضور DNA (دو منحنی با یکدیگر همپوشانی کامل دارند)



شکل ۱۱- مقایسه شدت فلوئورتابی نمک کایرال پلی آنیلین بهینه شده با اسید آمینه در حضور و عدم حضور DNA

همان طور که مشاهده می شود شدت نشر فلوئورتابی نانو ذرات پلی آنیلین در حضور و عدم حضور DNA تفاوت چندانی ندارد اما برهم کنش DNA سبب کاهش شدت فلوئورتابی نمک پلی آنیلین کایرال بهینه شده با اسید آمینه شده و بیشترین مقدار نشر نور در طول موج ۲۸۴ نانومتر مشاهده می شود.

نتیجه گیری

در این پژوهش، با ایجاد تغییراتی جزئی در روش های سنتز معمول، نانو ذرات پلی آنیلین به روش اکسایش شیمیایی در دو حالت اکسایشی نمک پلی آنیلین و امرالدین باز با ابعادی در حدود ۳۰ تا ۵۰ نانومتر سنتز شد. سپس طی فرایند بارگذاری نانو ذرات پلی آنیلین با اسید آمینه آلانین، ساختار پلی آنیلین کایرال بهینه شده

اسکلت فسفات رشته های DNA داشته باشند [۳۵]. از سوی دیگر پلی آنیلین کایرال بهینه شده با اسید آمینه افزون بر این برهم کنش الکتروستاتیک، از طریق برقراری پیوند هیدروژنی میان اسیدهای آمینه موجود در ساختارهایشان با جفت بازهای حفره های DNA نیز برهم کنش خواهند داشت. همین مسئله لزوم محاسبه درصد بارگذاری و در نتیجه مقدار حضور اسید آمینه در ساختار نمک کایرال پلی آنیلین بهینه شده با اسید آمینه را روشن می سازد. از آنجایی که DNA فاقد نشر فلوئورتابی است و پلی آنیلین نیز در حالت عادی نشر چندانی ندارد، تغییرات در میزان نشر فلوئورتابی در برهم کنش میان پلی آمیدهای کایرال بهینه شده با اسیدهای آمینه و DNA می تواند معیاری مناسب برای بررسی این برهم کنش ها باشد. پس به منظور بررسی این تغییرات ابتدا مقدار نشر فلوئورتابی سه ساختار ۲، ۵ و ۸ در بافر (به علت حساس بودن شدت فلوئورتابی به تغییرات pH محیط) و بدون حضور DNA و سپس در حضور DNA اندازه گیری شد.

برای اندازه گیری فلوئورتابی ابتدا ۰/۰۱ گرم از ساختارهای مذکور به طور مجزا همراه با ۰/۶ میلی لیتر بافر هپس ۰/۱ مولار مخلوط و سپس با همزن لوله با شدت زیاد هم زده شد. برای جلوگیری از مزاحمت نانو ذرات، نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتیفریوژ با دور ۳۵۰۰ قرار گرفت. در ادامه ۲۰۰ میکرولیتر از هریک از نمونه ها با بافر به حجم ۱/۵ میلی لیتر رسانده شد. سپس با دستگاه فلوئورتابی در طول موج برانگیختگی ۲۶۰ نانومتر، مقدار نشر فلوئورتابی هر یک از ساختارها اندازه گرفته شد. در مرحله بعد فلوئورتابی هر دو ساختار در حضور DNA اندازه گیری شد بدین صورت که ۰/۰۱ گرم از هر دو ساختار مذکور به طور مجزا همراه با ۰/۶ میلی لیتر محلول DNA با همزن با شدت زیاد هم زده شد. همانند قبل برای جلوگیری از مزاحمت نانو ذرات، نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتیفریوژ با دور ۳۵۰۰ قرار گرفت. در ادامه ۲۰۰ میکرولیتر از هریک از نمونه های فوق با بافر هپس به حجم ۱/۵ میلی لیتر رسانده شد. سپس با دستگاه فلوئورتابی در طول موج برانگیختگی ۲۶۰ نانومتر، نشر فلوئورتابی هر یک از ساختارها اندازه گرفته شد. در شکل های ۱۰ و ۱۱ شدت نشر

داد که نانو ذرات پلی‌آنیلین فاقد نشر فلئوئورتابی هستند اما اثر بارگذاری با اسید آمینه به مقدار قابل توجهی شدت نشر فلئوئورتابی آن را افزایش می‌دهد. برهم‌کنش با DNA و تشکیل کمپلکس پلیمر-DNA سبب کاهش این شدت نشر می‌شود. پس ساختار پلی‌آنیلین کایرال بهینه‌شده با اسید آمینه توانایی نفوذ به غشای لیپوفیل سلول را دارد که می‌تواند به عنوان پلیمری سنتز شده برای سامانه‌های انتقال ژن پیشنهاد شود.

با اسید آمینه که حاصل برهم‌کنش میان گروه آمینی پلی‌آنیلین و گروه عاملی اسیدی آلانین (آلانینی که گروه آمینی‌اش با بنزین کلروفورمات محافظت شده، $Z\text{-Ala-OH}$) است، تهیه شد. مقدار بارگذاری با تیتراسنجی پتانسیومتری ۳۳٪ تخمین زده شد. در نهایت برهم‌کنش پلی‌آنیلین و نمک کایرال بارگذاری شده با اسید آمینه آن با ماکرومولکول زیستی DNA (حاوی ۴۵ جفت باز) با طیف‌سنجی فلئوئورتابی مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه‌ها نشان

مراجع

- [1] Molapo, K. M.; Ndangili, P. M.; Ajayi, R. F.; Mbambisa, G.; Mailu, S. M.; Njomo, N.; & Iwuoha, E. I.; *Int. J. Elect. Sc.*, 7(12), 11859-11875, 2012.
- [2] MacDiarmid, A. G.; Epstein, A. J.; *Synth. Met.*, 65(2), 103-116, 1994.
- [3] Tran, H. D.; Norris, I.; D'Arcy, J. M.; Tsang, H.; Wang, Y.; Mattes, B. R.; & Kaner, R. B.; *Macromolecules*, 41(20), 7405-7410, 2008.
- [4] Mathew, R.; Yang, D.; Mattes, B. R.; Espe, M. P.; *Macromolecules*, 35(20), 7575-7581, 2002.
- [5] Massoumi, B.; Badalkhani, O.; Gheybi, H.; Entezami, A. A.; *Iran Poly. J.*, 20, 779-793, 2011.
- [6] Miras, M. C.; Acevedo, D. F.; Monge, N.; Frontera, E.; Rivarola, C. R.; Barbero, C. A.; *Open Macromol. J.*, 2, 58-73, 2008.
- [7] Yue, J.; Wang, Z. H.; Cromack, K. R.; Epstein, A. J.; MacDiarmid, A. G.; *J. Am. Chem. Soc.*, 113(7), 2665-2671, 1991.
- [8] Yue, J.; Gordon, G.; Epstein, A. J.; *Polymer*, 33(20), 4410-4418, 1992.
- [9] Moutet, J. C.; Saintl-Aman, E.; Tran-Van, F.; Angibeaud, P.; Utille, J. P.; *Adv. Mater.*, 4(7-8), 511-513, 1992.
- [10] Huang, J.; Egan, V. M.; Guo, H.; Yoon, J. Y.; Briseno, A. L.; Rauda, I. E.; & Kaner, R. B.; *Adv. Mater.*, 15(14), 1158-1161, 2003.
- [11] Schwientek, M.; Pleus, S.; Hamann, C. H.; *J. Electr. Chem.*, 461(1), 94-101, 1999.
- [12] Okamoto, Y.; Yashima, E.; *Angew. Chem. Int. Ed.*, 37(8), 1020-1043, 1998.
- [13] Yin, X.; Ding, J.; Zhang, S.; Kong, J.; *Bio-sens. Bioelectron.*, 21(11), 2184-2187, 2006.
- [14] Huang, J.; Virji, S.; Weiller, B. H.; Kaner, R. B.; *J. Am. Chem. Soc.*, 125(2), 314-315, 2003.
- [15] Zhang, L.; Wan, M.; *Thin solid films*, 477(1), 24-31, 2005.
- [16] Yan, Y.; Yu, Z.; Huang, Y. W.; Yuan, W. X.; Wei, Z. X.; *Adv. Mater.*, 19(20), 3353-3357, 2007.
- [17] Li, W.; Wang, H. L.; *Adv. Funct. Mater.*, 15(11), 1793-1798, 2005.
- [18] Hino, T.; Kumakura, T.; Kuramoto, N.; *Polymer*, 47(15), 5295-5302, 2006.
- [19] Zhang, X.; Song, W.; *Polymer*, 48(19), 5473-5479, 2007.
- [20] Pornputtkul, Y.; Kane-Maguire, L. A.; Wallace, G. G.; *Macromolecules*, 39(17), 5604-5610, 2006.
- [21] Chen, J.; Winther-Jensen, B.; Pornputtkul, Y.; West, K.; Kane-Maguire, L.; Wallace, G. G.;

- Electrochem. Solid-State Lett., 9(1), C9-C11, 2006.
- [22]Moriuchi, T.; Shen, X.; Hirao, T.; Tetrahedron, 62(52), 12237-12246, 2006.
- [23]Käs, E.; Izaurralde, E.; Laemmli, U. K.; J. Mol. Biol., 210(3), 587-599, 1989.
- [24]Alva, V.; Ammelburg, M.; Söding, J.; Lupas, A. N.; BMC structural biology, 7(1), 17, 2007.
- [25]Iacomino, G.; Picariello, G.; D'Agostino, L.; Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Molecular Cell Research, 1823(10), 1745-1755, 2012.
- [26]Iacomino, G.; Picariello, G.; Sbrana, F.; Di Luccia, A.; Raiteri, R.; D'Agostino, L.; Biomacromolecules, 12(4), 1178-1186, 2011.
- [27]Bancroft, D.; Williams, L. D.; Rich, A.; Egli, M.; Biochemistry, 33(5), 1073-1086, 1994.
- [28]Landschulz, W. H.; Johnson, P. F.; McKnight, S. L.; Science, 240(4860), 1759-1764, 1988.
- [29]Ellenberger, T. E.; Brandl, C. J.; Struhl, K.; Harrison, S. C.; Cell, 71(7), 1223-1237, 1992.
- [30]O'Neil, K. T.; Hoess, R. H.; DeGrado, W. F.; Science, 249(4970), 774-778, 1990.
- [31]Mire, C. A.; Kane-Maguire, L. A.; Wallace, G. G.; in het Panhuis, M.; Synth. Met. 159(7), 715-717, 2009.
- [32]Devendra, K.; Mitsumasa, I.; J. Appl. Poly. Sci., 127(5), 3693-3698, 2013.
- [33]Li, Y.; Wang, B.; Feng, W.; Synth. Met., 159(15), 1597-1602, 2009.
- [34]Goddard, E. D.; Ananthapadmanabhan, K. P.; Interactions of surfactants with polymers and proteins. CRC press, 1993.
- [35]Sergeev, V. G.; Lokshin, N. A.; Golubev, V. B.; Zezin, A. B.; Levon, K.; Kabanov, V. A.; Doklady Physical Chemistry, 390(1), 118-121, 2003.
- [36]Hao Y, Zhou B, Wang F, Li J, Deng L, Liu YN.; Biosens. Bioelectron., 15(52), 422-6, 2014.
- [37]Nazarzadeh, Z. E.; J. Appl. Res. in Chem., 13, 83-91, 2010.
- [38]Taleghani, H. G., Aleahmad, M., Eisazadeh, H.; World Applied Sciences Journal, 6(12), 1607-1611, 2009.
- [39]Tanwar, S., Ho, J. A. A.; Molecules, 20(10), 18585-18596, 2015.
- [40]Menardo, C.; Nechtschein, M.; Rousseau, A.; Travers, J. P.; Hany, P.; Synth. Met., 25(4), 311-322, 1988.

Study of the interaction of aminoacid-doped polyaniline with DNA and investigation of fluorescence properties of the prepared complex

F. Shahkarami¹, B. Gorji² and R. Zadmard^{3,*}

1. MSc in Organic Chemistry, Department of Chemistry, South Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Assistant Prof. of Organic Chemistry, Department of Chemistry, South Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Associate Prof. of Organic Chemistry, Modern Technologies Institute, Chemistry & Chemical Engineering Research Center of Iran, Tehran, Iran

Received: December 2015, Revised: January 2016, Accepted: February 2016

Abstract: The aim of this project is applying of nanopolyamides modified by aminoacids for interacting with DNA to lipophilize and traverse from lipophilic cell wall. Thus a novel and highly efficient route is developed for the synthesis of polyaniline nanostructures and its chiral and biocompatible salt is synthesized using amino acids as a dopant. After characterization of nanoparticles by using different methods such as FT-IR, NMR spectroscopy, and elemental analyses, we have studied the surface morphology of polyaniline nanostructures with scanning electron microscopy (SEM). The percentage of doping is measured through titrimetry. Then we have investigated the interaction of these new nanoparticles with oligo phosphates (DNA consists 45 Base pairs) by using fluorescence spectroscopy.

Keywords: Polyaniline, Nanoparticles, Aminoacid, SEM, Fluorescence, DNA