

برهمکنش بین تترافنیل پورفیرین سولفات (TPPS) و دوپاملانین

رحمت الله رحیمی*، مریم مختاری مهر، محبوبه ربانی
گروه شیمی، دانشگاه علم و صنعت، ایران، تهران

// :

// :

چکیده

مقدمه: از پورفیرین ها می توان در فرایندهای طراحی شده ای که نور مرئی با کارآیی بالا به کار می رود استفاده کرد. در محلول هایی که شامل حساس کننده هستند تفکیک بار، گرفتن یا دادن الکترون یا انتقال انرژی با زمان برانگیختگی بسیار کوتاه روی می دهد.

هدف: هدف از این مقاله، بررسی امکان وجود برهمکنش بین پورفیرین و یکی از رنگدانه های بیولوژیکی به نام ملانین است که بر کارآیی تبدیل نوری تأثیر می گذارد.

روش بررسی: برای بررسی برهم کنش بین پورفیرین و ملانین از دستگاه های UV-vis¹ و FT-IR² استفاده می شود. این برهمکنش ها در محدوده ی pH بین ۲ تا ۹ انجام می شود.

نتایج: طیف های جذبی نشان می دهد که برهم کنش صورت گرفته است. همچنین آزمایش ها نشان داده است که در pH پایین به دلیل رقابت بین گروه های مثبت محیطی در پورفیرین از یک طرف و پروتون ها از طرف دیگر با گروه های منفی موجود در ملانین، کمپلکس های ملانین- پورفیرین تخریب می شوند.

نتیجه گیری: جابجایی آبی، بیانگر نوعی برهمکنش بین دوپاملانین و پورفیرین اسیدی است. در نتیجه ی این برهمکنش کولنی بین پورفیرین اسیدی و گروه های عاملی منفی روی ملانین است که انتقال یون هیدروژن از پورفیرین اسیدی به ملانین به سرعت رخ می دهد.

واژه های کلیدی: تترافنیل پورفیرین سولفات، دوپاملانین، ملانین

*عهده دار مکاتبات: ایمیل: Rahimi_rah@iust.ac.ir، تلفن: ۷۷۲۴۰۲۹۰

¹ Ultraviolet visible

² Fourier transform infrared

مقدمه

پورفیرین‌ها و مشتقات آنها در فرایندهای تبدیل انرژی نوری به الکتریکی برای درمان‌های فوتودینامیکی سرطان و تکنولوژی لیزر به کار گرفته شده‌اند. بررسی این فرایندها پس از جذب نور و به صورت تابشی، غیرتابشی و تفکیک بار صورت می‌گیرد.

ملانین طبیعی رنگدانه‌ای بیولوژیکی است که در جانوران و گیاهان یافت می‌شود و ساختار پلی فنولی یا آمینوفنولی دارد. ملانین تنها بیوپلیمری است که حاوی غلظت بالایی از رادیکال‌های آزاد پایدار است. در واقع ملانین بصورت یک پلیمر ناهمگن است که شامل گروه‌های عاملی متنوعی مثل کربوکسیل، کوئینون، هیدروکسیل و آمین می‌باشد. این گروه‌ها به عنوان محل‌های اتصال به فلز در نظر گرفته می‌شوند.^(۱)

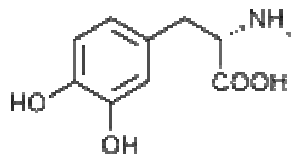
از تشابه ملانین با رزین‌های مبادله‌کننده یونی کربوکسیلی گزارش شده است که در pH برابر ۵ و ۷/۶ اتصال فلز به ملانین از طریق گروه‌های کربوکسیل انجام می‌شود.^(۲) ملانین مهمترین رنگدانه‌ی موجود در بدن است که مسؤول ایجاد رنگ در پوست بوده و علاوه بر این به عنوان یک محافظ نوری عمل کرده و مسؤول کاهش ابتلا به سرطان پوست در افراد دارای رنگ مو و پوست تیره است.^(۳و۴) اگرچه تا کنون اعمال بیولوژیکی و مکانیسم عملکرد ملانین کاملاً شناخته نشده است، اما نقش اولیه‌ی آن در پوست و چشم حفاظت این بافت‌ها در برابر تشعشعات زیان‌بار نور خورشید بویژه تشعشعات فرابنفش است. ملانین به طور موثر فوتون‌های مضر بیولوژیکی را به گرمای بی‌ضرر تبدیل می‌کند.^(۵) همچنین ملانین با گرفتن و از بین بردن رادیکال‌ها بافت‌ها را در برابر نور محافظت می‌کند و توانایی گرفتن و از بین بردن گونه‌های اکسیژن فعال را نیز دارد.^(۶و۷)

در این تحقیق، برهمکنش مولکول پورفیرین (TPPS) با مولکول دوپا ملانین توسط پدیده جذب بررسی شده است. دوپا ملانین با پورفیرین مثبت در حالت پایه کمپلکسی تشکیل می‌دهد که به طور مشخصی به تصحیح خواص نوری مولکول رنگ و خواص حرارتی ملانین کمک می‌کند.

مواد و روشها

تهیه دوپا ملانین

دوپا ملانین از پلیمریزاسیون اکسایشی ۳ و ۴-دی هیدروکسی فنیل آلانین (L-dopa) (شکل ۱) تهیه می‌شود.^(۷) برای تهیه رسوب ملانین مقدار ۵ mM ماده دوپا را در بافر فسفات با غلظت ۰/۰۷ مولار در pH=۸ حل کرده و آن را برای مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در دمای اتاق قرار می‌دهیم. پس از گذشت این مدت با استفاده از دستگاه سانتریفوژ (Hermle, Z 230 A) در ۱۵ دقیقه رسوب را جمع‌آوری می‌کنیم. سپس آن را با آب دیونیزه شده شستشو داده و با پنتوکسید فسفر خشک می‌کنیم. رسوب سیاه حاصل دوپا ملانین است.

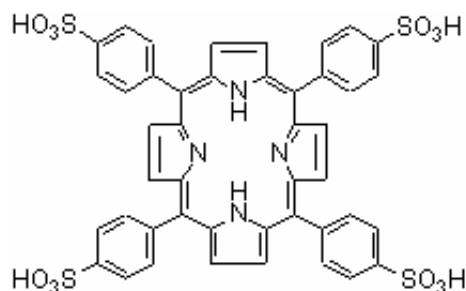


شکل ۱- ساختار شیمیایی L-dopa

تهیه تترافنیل پورفیرین سولفات

ابتدا در یک بالن ۱۰۰ سی سی مقدار ۲ سی سی (۲/۱ گرم = ۰/۰۲ مول) بنزالدئید و ۳۰ سی سی پروپانوئیک اسید ریخته و محلول را تا جوشاندن به آرامی گرم کرده و سپس قطره قطره از محلول ۱/۵ سی سی پیرول خالص به علاوه ۳ سی سی پروپانوئیک اسید به آن اضافه می کنیم. (طول مدت افزودن پیرول حدود ۳ دقیقه می باشد). پس از نیم ساعت جوشاندن محلول آن را در دمای اتاق خنک کرده و سپس با قیف بوخنر و ارلن تخلیه رسوب TPP (تترافنیل پورفیرین)^۱ را جمع آوری می کنیم. رسوب را ابتدا با مقدار ۱۵ سی سی متانول و ۱۵ سی سی آب داغ و سپس با مقدار ۳ سی سی متانول سرد (برای از بین بردن آب اضافی) شستشو داده و در دمای اتاق خشک می کنیم. خلوص TPP به دست آمده ۹۷ درصد است.

حال از ماده اولیه TPP به مقدار ۰/۵ گرم برداشته با ۵ سی سی سولفوریک اسید غلیظ مخلوط کرده و در هاون بصورت خمیری در می آوریم. سپس محتویات هاون را به یک بشر ۵۰ سی سی منتقل کرده و ۱۲ سی سی اسید سولفوریک غلیظ به آن می افزاییم. مخلوط را به مدت ۴ ساعت بر روی حمام بخار قرار داده و برای کامل شدن واکنش ۴۸ ساعت در دمای اتاق قرار می دهیم. سپس محلول را با قیف شیشه ای فیلتر دار صاف کرده تا TPP باقی مانده حذف شود. ماده صاف شده را با دو برابر حجم آن به آرامی توسط آب دوبار تقطیر رقیق کرده تا رسوب سبز روشن نمک H₂SO₄ دی اسید TPP سولفات شده در موقعیت پارا بدست آید (این واکنش گرمازا است). رسوب حاصل را چند بار با استون شسته و در مجاورت هوا خشک کرده تا رسوب ورقه ای TPPS به رنگ سبز-آبی متالیک بدست آید. ساختار شیمیایی تترافنیل پورفیرین سولفات در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲- ساختار شیمیایی تترافنیل پورفیرین سولفات

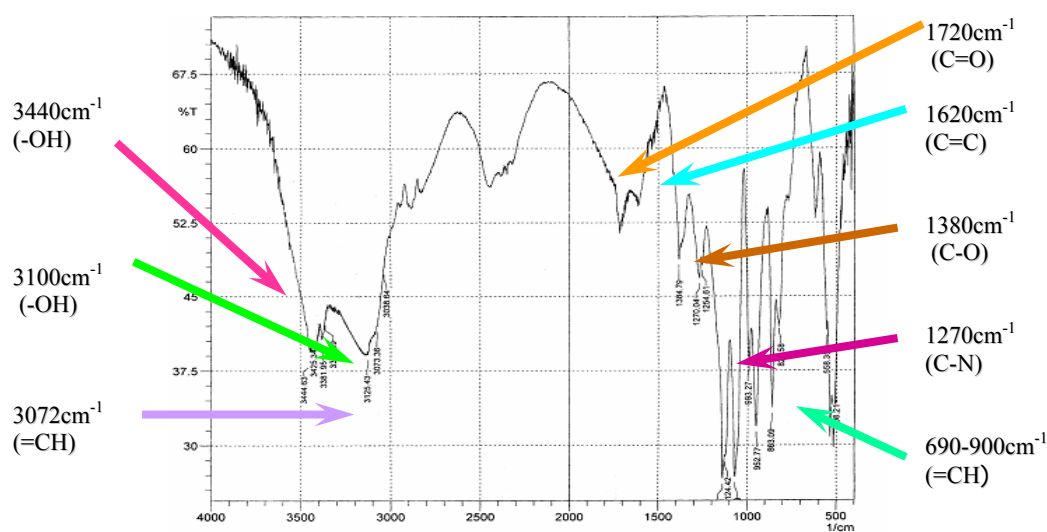
¹Tetraphenylporphyrin sulfate

نتایج و بحث

دوپا ملانین

طیف زیر قرمز

دستگاه استفاده شده از نوع FT-IR-8400S (Shimadzu) می باشد. همان طور که در طیف IR دوپاملانین در شکل ۳ دیده می شود، یک پیک پهن در حدود 3440 cm^{-1} مشاهده می شود که مشخصه عمومی ملانین است و ناشی از ارتعاشات کششی گروه های OH- می باشد. جذب مشاهده شده در 1720 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی گروه C=O در کربوکسیلیک اسید و جذب مشاهده شده در 1620 cm^{-1} نشانگر ارتعاشات کششی گروه C=C آروماتیک است. جذب OH- کربوکسیلیک اسید در 3100 cm^{-1} و در کنار آن ارتعاشات کششی گروه =CH آروماتیک در 3072 cm^{-1} مشاهده می شود که گاهی این دو جذب با هم پوشانده می شوند. پیک قوی مربوط به CO کربوکسیلیک اسید در ناحیه 1380 cm^{-1} - 1000 cm^{-1} در 1270 cm^{-1} ظاهر شده است. جذب مشاهده شده در 3380 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی N-H است. جذب های قوی در ناحیه 900 cm^{-1} - 690 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات خمشی خارج از صفحه و در صفحه برای گروه CH- آروماتیک است. جذب مربوط به ارتعاش کششی C-N در 1270 cm^{-1} دیده می شود (شکل ۳).

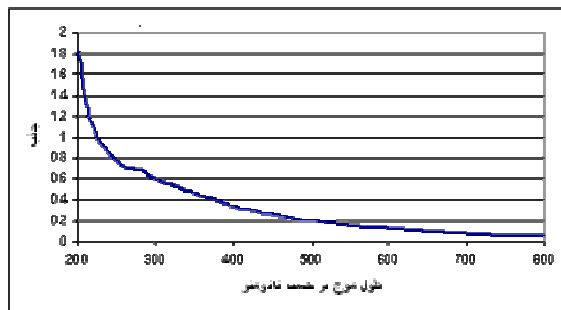


شکل ۳- طیف IR دوپا ملانین

طیف مرئی - فرا بنفش

دستگاه استفاده شده از نوع UV-2550 (Shimadzu) می باشد. طیف UV-Visible به دست آمده دوپاملانین در شکل ۴ آمده است. یک جذب پهن قوی در ناحیه UV-Visible آشکار شده است که از مشخصات ملانین ها بوده و مسئول نقش حفاظت نوری آن می باشد.^(۱) همچنین جذب دوپا ملانین با افزایش طول موج کم

می شود.^(۷) افزایش جذب مشاهده شده در ۲۶۰ nm احتمالاً به وجود اکسیژن های موجود در ملانین مربوط می شود. حلال دوپا ملانین در اینجا بافر فسفات با pH=۷/۶ است.

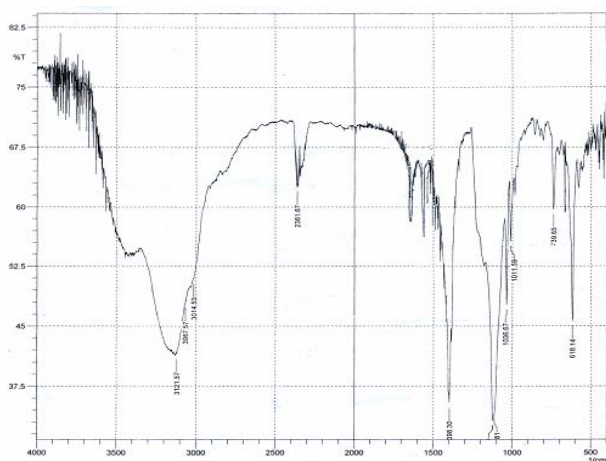


شکل ۴- طیف جذبی دوپاملانین

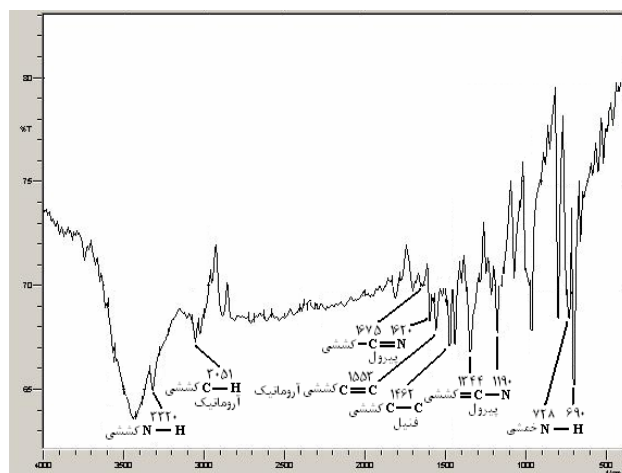
تترا فنیل پورفیرین سولفات

طیف زیر قرمز

در طیف زیر قرمز تترا فنیل پورفیرین سولفات (شکل ۵)، وجود یک پیک پهنا در ناحیه حدود ۳۱۰۰ nm مربوط به ارتعاش کششی N-H می باشد. برای ارتعاش کششی C=C آروماتیک جذب قوی در ۱۶۵۰ و ۱۴۵۰ دیده می شود. جذب مربوط به ارتعاش خمشی این گروه در ناحیه ۹۰۰ - ۷۰۰ دیده می شود. ارتعاش کششی گروه C=N در حدود ۱۶۰۰ جذبی را نشان می دهد. یک جذب قوی در حدود ۶۲۰ و دو جذب قوی در دو ناحیه حدود ۱۲۰۰ nm و ۱۴۰۰ nm مربوط به ارتعاش کششی S=O و S-O است که مختص سولفونیک اسیدهاست.



(ب)

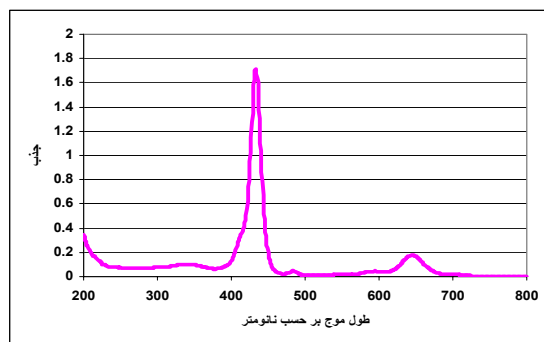


(الف)

شکل ۵- طیف IR (الف) تترا فنیل پورفیرین (ب) تترا فنیل پورفیرین سولفات

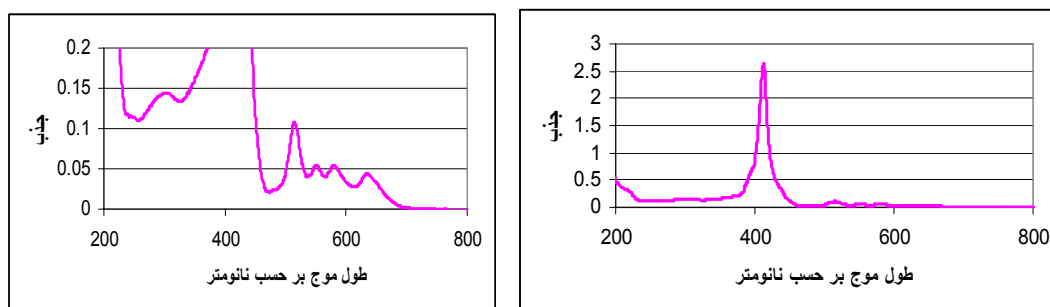
طیف مرئی - فرا بنفش

طیف جذبی در پورفیرین ها دارای دو نوع نوار است که هر دو مربوط به انتقالات $\pi \rightarrow \pi^*$ برای لیگاند آروماتیک پورفیرین است. یک نوار جذبی با شدت بالا در ناحیه $380 - 480 \text{ nm}$ وجود دارد که به نام نوار سورت معروف است و نوارهای جذبی دیگر به Q-باندها معروف هستند. برای این پورفیرین سولفات ه یا دی اسید در آب یک پیک در حدود 433 nm و یک پیک در حدود 645 nm دیده می شود که مشخصه پورفیرین اسیدی است (شکل ۶) و با طیف استاندارد (433 nm و 644 nm) همخوانی دارد. حلال در اینجا آب دیونیزه می باشد.



شکل ۶- طیف جذبی تترافنیل پورفیرین سولفات

پس از حل کردن تترافنیل پورفیرین سولفات سنتزی در بافر با $\text{pH}=7/6$ هیدروژن های اسیدی از مولکول جدا شده و به TPPS4 تبدیل می شود. در طیف های جذبی گرفته شده از این محلول (شکل ۷) جذب هایی به ترتیب از چپ به راست در $413, 515, 552, 578$ و 636 نانومتر دیده می شود که با طیف جذبی TPPS4 استاندارد ($413, 515, 550, 578$ و 631 نانومتر) مطابقت دارد.^(۸)



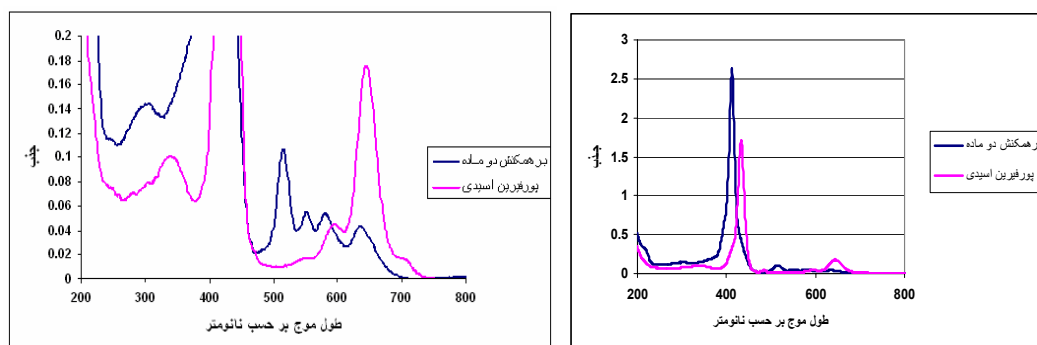
شکل ۷- طیف جذبی تترافنیل پورفیرین سولفات در بافر

برهمکنش ملانین و پورفیرین

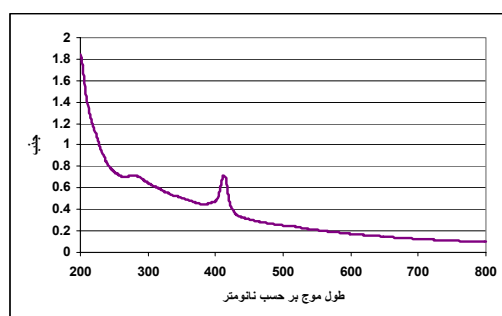
در این تحقیق برهمکنش مولکول پورفیرین مورد نظر با مولکول دوپا ملانین توسط پدیده جذب بررسی شده است. در تمام آزمایشات محلول دوپا ملانین با غلظتی در حد گرم بر لیتر و پورفیرین ها با غلظتی در حد میکرومولار بر لیتر در آزمایش شرکت می کنند و ۱۰ تا ۲۰ بار با آب دیونیزه رقیق شده اند. طیف های جذبی با دستگاه UV-vis در ناحیه ی حدود ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر و تمام اندازه گیری ها در دمای اتاق انجام گرفته است.

¹Tetraphenylporphyrin sulfate

زمانیکه دوپا ملانین با تترا فنیل پورفیرین سولفات ه مخلوط می شود، شیفت مشخصی نسبت به پیک اصلی از ۴۳۳ nm به ۴۱۳ nm به طرف جابجایی آبی در طیف جذبی مشاهده می شود (شکل ۸-الف). جابجایی آبی برهمکنشی را بین دوپا ملانین و پورفیرین اسیدی تأیید می کند که در نتیجه این برهمکنش کولنی بین پورفیرین مثبت و گروه های عاملی منفی روی ملانین، انتقال یون های هیدروژن از پورفیرین به ملانین به سرعت رخ داده و سبب حذف پیک های مشخصه اسیدی می شود. ملانین با گرفتن هیدروژن های اسیدی، تترا فنیل پورفیرین سولفات ه را به صورت باز آزاد درآورده و طیف جذبی آن را تغییر می دهد.



(الف)



(ب)

شکل ۸- برهمکنش دوپا ملانین با (الف) محلول آبی تترا فنیل پورفیرین سولفات ه و (ب) تترا فنیل پورفیرین سولفات ه در بافر با دوپا ملانین

تطابق طیف جذبی حاصل با وجود جذب هایی در ۴۱۳، ۵۱۵، ۵۵۰، ۵۸۱ و ۶۳۶ نانومتر به ترتیب از چپ به راست با طیف جذبی TPPS4 (۴۱۳، ۵۱۵، ۵۵۲، ۵۷۸، ۶۳۶ نانومتر) این موضوع را تأیید می کند. همچنین جذب موجود در ۷۰۶ nm که مشخصه اسیدی بودن مولکول است از بین رفته و پیک سورت از ۴۳۳ nm به ۴۱۳ nm به طرف جابجایی آبی میل می کند، زیرا حضور دوپا ملانین سبب افزایش فاصله سطوح الکترونی انتقالات $\pi \rightarrow \pi^*$ در تترا فنیل پورفیرین سولفات ه می شود.

وقتی طیف جذبی مخلوط TPPS4 و دوپا ملانین را با TPPS4 مقایسه می کنیم، تغییر مشخصی که نشان دهنده یک برهمکنش قوی باشد در موقعیت پیک اصلی پورفیرین مشاهده نمی شود. این نکته بیانگر این است که برهمکنشی بین دوپا ملانین و TPPS4 وجود ندارد. در شکل ۸-الف حذف شانه های کوچک و افت شدت پیک

سورت احتمالاً به دلیل کاهش غلظت TPPS4 و عدم تغییر محل پیک سورت (۴۱۳nm) بیانگر عدم وجود برهمکنشی مشخص بین این دو ماده است.

نتیجه گیری

جابجایی آبی، بیانگر نوعی برهمکنش بین دوپا ملانین و پورفیرین اسیدی است. در نتیجه ی این برهمکنش کولنی بین پورفیرین اسیدی و گروه های عاملی منفی روی ملانین است که انتقال یون هیدروژن از پورفیرین اسیدی به ملانین به سرعت رخ می دهد. ملانین تحت تحریک نوری به طور مؤثری گرما آزاد می کند و خواص گرمایی ملانین توسط پورفیرین به ویژه فرم کاتیونی تصحیح می شود. برهمکنش دوپا ملانین با پورفیرین اسیدی به طور مشخصی خواص نوری مولکول رنگ را تصحیح می کند. حضور دوپا ملانین تأثیر مشخصی بر رفتار حرارتی - نوری پورفیرین مثبت دارد.

پورفیرین های مثبت اسیدی با دوپا ملانین پیوند کولنی برقرار می کند و روی ملانین اثر خاموش شدن دارد، اما در اثر اختلاط دوپا ملانین با TPPS4 فقط کاهشی در شدت جذب ایجاد می شود، بدون اینکه در موقعیت جذب اصلی تغییری ایجاد شود. طیف جذبی بین دوپا ملانین و TPPS4 تأیید می کند که این رنگ هیچ فرم کمپلکسی با دوپا ملانین ایجاد نمی کند. ملانین ها می توانند انتقال الکترون را با محدوده ی وسیعی از مولکول ها متحمل شوند و در نقش یک اکسنده و یا یک کاهنده ظاهر شود. اما هنوز مکانیسم واقعی خاموش شدن شناخته نشده است.

References:

1. Wrobel, D., Planner, A., Hanys, I., Wielgus, A., saran, T., *J. Photochem. Photobiol. B*, **41**, 45 (1997).
2. Felix, C.C., Hyde, J.S., Sarna, T., Seely, R.C., *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 3922 (1978).
3. Liu, Y., Hong, L., Wakamatsu, K., Ito, S., Adhyaru, B., Cheng, C., *Photochem. Photobiol.*, **81**, 135 (2005)
4. Wrobel, D., Hanys, I., Planner, A., Dudkowiak, A., Saran, T., *J. Photochem. Photobiol. B*, **47**, 165 (1998).
5. Buszman, E., Pilawa, B., Zdybel, M., Wrzesniok, D., Grzegorzczak, A., Wilczok, T., *Acta physica polonica.*, **108**, 353 (2005)
6. Meredith, P., Powell, B.J., Riesz, J., Nighswander-Rempel, S.P., Pedersonc, M.R., Moored, E.G., *The Royal Society of Chem.*, **2**, 37 (2006)
7. Hanyz, I., Wrobel, D., *Cryst. Res. Technol.*, **38**(3-5), 325 (2003)
8. Kelbauskas, L., Bagdonas, S., Dietel, W., Rotomskis, R., *J. Luminescence*, **101**, 253 (2003)