



Scan online to view this article

The Effects of Titanium dioxide Nanoparticles Coatings in the extent of their Effectiveness: DNA Interaction

Azadeh Hekmat^{*,1}, Kosar Mohsenpour¹, Seyed Mohammad Atyabi², Haleh Bakhshandeh³

1. Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Department of Pilot Biotechnology, Pasteur Institute, Tehran, Iran

3. Nanobiotechnology Department, New Technologies Research Group, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

Abstracts

Aim and Background: Among semiconductor nanoparticles, the titanium dioxide nanoparticles (TiO₂NPs) are being widely consumed in the nanotechnology industry and medicine. TiO₂NPs are synthesized in various ways. The purpose of this study was to investigate the effect of coating in the synthesis of TiO₂NPs on their ability to induce structural disorder in DNA.

Materials and Methods: Ultraviolet spectroscopy, fluorescence emission spectroscopy, circular dichroism (CD) spectroscopy, and zeta potential analysis were used to study the structural effects of DNA after interaction with TiO₂NPs with ethylene glycol dispersion matrix, TiO₂NPs contains HNO₃ stabilizer and uncoated TiO₂NPs.

Results: The Ultraviolet spectroscopy, fluorescence quenching and binding constants indicated that TiO₂NPs with ethylene glycol dispersion matrix interacted with TiO₂NPs with a higher binding constant value ($2.2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) compare with two other TiO₂NPs ($2.3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ for uncoated TiO₂NPs and $1.1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ for TiO₂NPs contains HNO₃ stabilizer). The CD spectra indicated TiO₂NPs have significant influence on the DNA base stacking. The zeta potential analysis showed the surface charge of DNA especially after the addition of TiO₂NPs with ethylene glycol dispersion matrix (-24.60 mV) was reduced.

Conclusion: This study showed that TiO₂NPs with ethylene glycol dispersion matrix interact with DNA more strongly compared with two other TiO₂NPs. This study indicated that the type of coating of TiO₂NPs affects the DNA interaction and consequently the type of coating of nanoparticles is very important in designing nano-drugs especially for cancer treatment.

Keywords: titanium dioxide nanoparticles (TiO₂NPs), DNA, Spectroscopy, Zeta Potential, Synthesis, IAU science

Corresponding author:

Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Email: hekmat@ut.ac.ir



برای مشاهده این مقاله به صورت
آنلاین اسکن کنید

تأثیر نوع پوشش نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در میزان اثرگذاری آن‌ها: برهم کنش با DNA

آزاده حکمت^{۱*}، کوثر محسن پور^۱، سید محمد اطیابی^۲، هاله بخشنده^۳

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور، تهران، ایران

۳- گروه نانوبیوتکنولوژی، گروه فناوری‌های نوین، انستیتو پاستور، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: در میان نانوذرات نیمه‌هادی، نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (TiO_2 NPs) به‌طور گسترده در صنایع نانوتکنولوژی و پزشکی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. TiO_2 NPs از راه‌های مختلف سنتز می‌شوند. هدف از این مطالعه بررسی نقش نوع پوشش مورد استفاده در سنتز TiO_2 NPs بر ایجاد تغییرهای ساختاری DNA است.

مواد و روش‌ها: از طیف‌سنجی‌های جذبی ماوراء بنفش (UV)، فلورسانس و دورنگ نمایی دورانی (CD) به‌همراه آنالیز پتانسیل زتا جهت بررسی تغییرهای ایجاد شده در ساختار DNA در هنگام افزودن TiO_2 NPs حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول، حاوی پایدارکننده HNO_3 و بدون پوشش استفاده گردید.

نتایج: مطالعات طیف‌سنجی UV، خاموشی فلورسانس و ثابت‌های اتصال نشان داد نانوذرات حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول ($2 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}$) در مقایسه با دو نانوذره دیگر ($2/3 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1}$ برای TiO_2 NPs بدون پوشش ویژه و $1/1 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}$ برای TiO_2 NPs حاوی پایدارکننده HNO_3)، می‌توانند برهم‌کنش قوی‌تر با DNA داشته باشند و موجب تغییر ساختار DNA شوند. طیف‌سنجی CD نشان داد در حضور TiO_2 NPs استکینگ بازهای DNA کاهش می‌یابد و مقدار پتانسیل زتا DNA در حضور TiO_2 NPs حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول کمتر شده است ($-24/60 \text{ mV}$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد TiO_2 NPs حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول نسبت به دو نوع نانوذره دیگر برهم‌کنش قوی‌تری با DNA دارد. بنابراین نوع پوشش انتخابی در هنگام سنتز TiO_2 NPs در میزان برهم‌کنش نانوذرات با DNA حیاتی است و توجه به این نکته در طراحی نانوداروها و درمان سرطان بسیار مهم است.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (TiO_2 NPs)، DNA، طیف‌سنجی، پتانسیل زتا، سنتز، IAU science

مقدمه

زیست‌سازگاری، پایداری شیمیایی و زیستی بالا در صنایع دارویی، پزشکی و محیط زیست استفاده می‌شوند. از میان نانوذرات نیمه‌رسانا، نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (TiO_2) به‌علت پایداری بالا، دارا بودن خاصیت فعال نوری و تمایل به

گسترش فناوری نانو در دهه اخیر موجب پیشرفت شگرفی در صنایع مختلف شده است. نانوذرات به‌دلیل ویژگی‌های منحصر به فردشان از جمله افزایش نسبت سطح به حجم،

تاکتون روش‌های متعددی برای سنتز نانوذرات TiO_2 مورد استفاده قرار گرفته است که از آن جمله می‌توان به روش هیدرولیز، روش سل-ژل در حضور یک ماده فعال کننده سطحی، روش هیدروترمال تحت حرارت و فشار، روش سل-ژل بر روی یک بستر از جنس کربن فعال شده، روش میکروویو هیدروترمال، روش هیدروترمال به کمک امواج فراصوتی، روش مکانوشیمیایی، رسوبدهی شیمیایی و الکتروشیمیایی و روش پلاسمای حرارتی با فرکانس رادیویی اشاره نمود (۶). پلی اتیلن گلیکول (PEG) یک پلی مر پیچ خورده از تکرار واحدهای اتیلن اتر با کنفورماسیون پویا است. علاوه بر این، PEG غیرسمی و غیرایمنی‌زا است و دارای فارماکوکنتیک مناسب و توزیع مناسب بافتی است (۷). پلی اتیلن گلیکول دارای تعدادی از خواص مهم فیزیکوشیمیایی و بیولوژیکی از جمله آب‌دوستی و عدم سمیت است (۸). اصلاح سطح نانوذرات با PEG نه تنها مانع از تجمع نانوذرات می‌شود، بلکه نانوذرات را به جذب پروتئین مقاوم می‌سازد و زیست سازگاری آن‌ها را بهبود می‌بخشد (۹). پوشش نانومواد با PEG هم‌چنین زمان گردش نانومواد در درون بدن را افزایش می‌دهد، در نتیجه احتمال کاهش کلیرانس (پاکسازی از خون) از طریق سیستم رتیکولاندوتلیال را موجب می‌شود. یافته‌ها نشان می‌دهد که پوشش نانوذرات TiO_2 با PEG سمیت سلولی آن‌ها را کاهش می‌دهد و القاء ژن‌های مرتبط با استرس را کاهش می‌دهد. نتایج هم‌چنین نشان می‌دهد که اثرهای ناشی از TiO_2 بر روی سمیت سلولی و بیان ژن بسته به نوع سلول و تغییر سطح آن وابسته است (۱۰). پگیله شدن یکی از موفق‌ترین روش‌ها جهت افزایش زمان گردش نانوذرات در خون است که منجر به هدف‌گیری بهتر دارو و در عین حال افزایش نفوذپذیری در تومورها می‌گردد (۱۱). اسید نیتریک (HNO_3) به‌طور معمول جهت اصلاح سطح و پایدار کننده در سنتز نانوذرات به‌کار می‌رود. تیمار با HNO_3 موجب افزایش سطح و اصلاح سطح نانوذرات دی اکسید تیتانیوم می‌شود (۱۲).

عملکرد حیاتی اسیدهای نوکلئیک به ویژه DNA در فرآیندهای زیسته، شناخته شده است. برهم‌کنش DNA با

واکنش بالا در گستره وسیعی از صنایع مرتبط با فناوری نانو کاربرد دارند. عنصر تیتانیوم یک فلز واسطه با دانسیته کم، استحکام و درخشندگی بالا است. این عنصر در سال ۱۷۹۱ کشف گردید و توسط مارتین کلاپروت تیتان (خدای خورشید، برگرفته از اساطیر یونانی) نام‌گذاری شد (۳-۱). بیش از ۹۰ درصد تیتانیوم استخراج شده به‌صورت تیتانیوم دی اکسید است. تیتانیوم دی اکسید که با نام‌های اکسید تیتانیوم IV یا تیتانیا نیز شناخته می‌شود هنگامی که به عنوان رنگدانه مورد استفاده قرار گیرد نام‌های تیتانیوم سفید یا رنگدانه سفید را به خود می‌گیرد (۳). دی اکسید تیتانیوم در سه فاز اصلی بلورین روتیل (Rutile)، آناتاز (Anatase) و بروکیت (Brookite) وجود دارد. شبکه بلورین روتیل به صورت تتراگونال است و دارای ثابت انکسار و قدرت تفرق بالایی در میان دیگر فلزات است و نام خود را از واژه رتیلوس به معنای قرمز تیره برگرفته است. شبکه بلورین آناتاز نیز به‌صورت تتراگونال بوده و به‌علت کشیدگی شبکه بلورین آن به آناتاز یا کشیده معروف است. بر خلاف دو فاز قبلی، فاز بروکیت به‌صورت ارتومبیک بوده و فعالیت نوری ندارد و کمیاب‌ترین فاز بلورین TiO_2 به‌شماره می‌رود. این فاز، به احترام جیمز بروک معدن شناسی که این فاز را برای اولین بار کشف نمود، بروکیت نام‌گذاری شد. از بین این سه فاز، فاز آناتاز زیست سازگاری بیش‌تری نسبت به فاز رتیل دارد (۳). همه خصوصیت‌های دی اکسید تیتانیوم در نانو TiO_2 وجود دارد با این تفاوت که اندازه آن بسیار کوچک‌تر است و به‌واسطه سطح تماس بیش‌تر قابلیت اثرکنندگی بیش‌تری دارد. با توجه به مطالعه‌های انجام پذیرفته به‌نظر می‌رسد نانوذرات دی اکسید تیتانیوم از طریق تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS)، تخریب فعالیت میتوکندری سلول، برهم‌کنش با غشای سلول و پراکسید نمودن لیپیدهای غشایی، آزادسازی سیتوکروم C از میتوکندری و تأثیر بر تنظیم‌کننده‌های چرخه سلولی موجب مرگ سلولی (آپاپتوز) می‌گردند (۴،۱). نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در پزشکی، دارورسانی (Drug Delivery)، فوتودینامیک تراپی (PDT) و تصویربرداری کامپیوتری از تومورها (CT) بسیار کاربرد دارند (۵).

نانوذرات با توجه به اثرهای احتمالی نانوذرات بر سنتز، همانندسازی و ساختار DNA در صنایع داروسازی و پزشکی بسیار حائز اهمیت است (۱۳). نوع پوشش، پایدار کننده و یا حلال نانوذرات می تواند در میزان برهم کنش نانوذرات با ماکرومولکول ها مؤثر باشد، لذا انجام مطالعه هایی که تأثیر نوع پوشش نانوذرات را بر میزان برهم کنش با DNA بررسی کند لازم و ضروری است. در این مطالعه به مقایسه تأثیر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (در فاز آاناتاز) با ابعاد کم تر از ۱۰ نانومتر و سنتز شده به روش شیمیایی بر روی ساختار DNA با استفاده از تکنیک های طیف سنجی پرداخته شد. این مطالعه می تواند اطلاعات مهم و کاربردی در طراحی نانوداروها در اختیار متخصصین قرار دهد و پژوهشگران را در انتخاب نانوذرات مناسب با توجه به هدف کاربردی آنان یاری دهد.

مواد و روش ها

مواد

ct-DNA (استخراج شده از تیموس گاو)، از شرکت سیگما آلد ریچ (آمریکا) خریداری شد. نانوذرات دی اکسید تیتانیوم فاز آاناتاز (پودر سفید رنگ، سنتز شده به روش شیمیایی، با اندازه ۸-۴ نانومتر، دارای پایدار کننده HNO_3 ، سطح ویژه $140 \text{ m}^2/\text{g}$ ، قابل حل در آب به صورت محلول کلئیدی شفاف، غیر قابل حل در محلول های غیر قطبی و شماره کاتالوگ PL-TiO-NO) (شکل a1 و d) از شرکت PlasmaChem GmbH (آلمان) تهیه شد. نانوذرات دی اکسید تیتانیوم فاز آاناتاز (پودر، اندازه کم تر از ۱۰ نانومتر، ۹۹٪ خلوص، سطح ویژه $150 \text{ m}^2/\text{g}$ و سنتز شده به روش شیمیایی) (شکل b1 و e) از شرکت نانو پارس لیما (ایران) خریدار شد. این نوع از نانوذرات پس از حل شدن در بافر تریس به مدت ۱۰ دقیقه سونیکه شدند. نانوذرات دی اکسید تیتانیوم فاز آاناتاز (محلول شفاف، اندازه کم تر از ۱۰ نانومتر، ۹۹٪ خلوص، سطح ویژه $150 \text{ m}^2/\text{g}$ ، کروی شکل، حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول، سنتز شده به روش

شیمیایی و شماره تولید US7832) (شکل c1 و f) از شرکت US Research Nanomaterials (آمریکا) خریداری شد. Tris hydroxymethyl aminomethane (Tris-base) و DNA Green Viewer™ به ترتیب از شرکت سیناژن (ایران) و شرکت پارس توس (ایران) خریداری شدند. تأیید اندازه نانوذرات با استفاده از دستگاه اندازه گیری پراکندگی نور پویا (DLS) Brookhaven Instruments Corporation (ساخت آمریکا) انجام شد. تمام آزمایش ها در بافر Tris-base ۰/۱ مولار با pH ۷/۴ انجام شد. آزمایش ها سه بار تکرار شدند.

مطالعه های طیف جذبی ماوراء بنفش

اندازه گیری جذب نور ماوراء بنفش توسط ماکرومولکول DNA، به منظور مطالعه تأثیر نوع پوشش انتخابی در هنگام سنتز نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در غلظت های مختلف بر ساختار DNA مورد بررسی قرار گرفت. جذب نور ماوراء بنفش با استفاده از اسپکتروفتومتر مرئی-فرا بنفش مدل پرکین EZ301 (ساخت آمریکا) بررسی شد. در ابتدا DNA با غلظت ۸/۳۲ میکرومولار آماده شد. با روبش طول موج در محدوده طول موج ۲۳۰-۲۹۰ نانومتر، مشخص گردید که DNA در محدوده ۲۶۰ نانومتر دارای جذب مشخص است. در مرحله بعد پس از افزودن غلظت های مختلف هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (۱۹-۳ میکرومولار) تغییرهایی در طیف جذبی DNA مطالعه شد. دمای انجام آزمایش ها ۳۷ درجه سانتی گراد تنظیم شد. در هنگام هر تیتراسیون محلول به خوبی هم زده شده و طیف جذبی هر تیتراسیون اندازه گیری می گردید.

مطالعه های طیف سنجی نشر فلورسانس

اندازه گیری شدت نشر فلورسانس DNA، به منظور مطالعه تأثیر نوع پوشش انتخابی در هنگام سنتز نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در غلظت های مختلف بر ساختار DNA مورد بررسی قرار گرفت. از آنجا که ماکرومولکول DNA دارای نشر فلورسانس ذاتی قابل ملاحظه ای نیست، از یک ماده فلوروفور (رنگ فلوروسنت) موسوم به DNA Green Viewer™ جهت اندازه گیری تغییرها در نشر فلورسانس DNA استفاده گردید. نشر فلورسانس با استفاده از

غلظت محلول بستگی دارد. بدین علت نتایج بر حسب بیضی‌واری مولی ($\text{deg cm}^2 \text{dmol}^{-1}$) ارائه شد.

مطالعه‌های پتانسیل زتا (ζ)

اختلاف پتانسیل بین آخرین لایه محلول در برگرفته ذرات کلئید و اولین لایه غیر متحرک از حلال اطراف ذرات کلئید را پتانسیل الکتروستاتیک یا پتانسیل زتا می‌نامند. پتانسیل زتا، مقدار دافعه بین ذره مجاور را نشان می‌دهد. پتانسیل زتا نمونه‌های DNA ($8/32$ میکرومولار) در حضور و عدم حضور هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (19 میکرومولار) به وسیله دستگاه Zetasizer Nano-ZS مدل MALVERN (ساخت انگلیس) در دمای 37 درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد.

نتایج

مطالعه‌های طیف جذبی ماوراء بنفش

همان‌گونه که در شکل ۱ نشان داده شده است DNA دارای طیف جذبی شاخصی در ناحیه طول موج 260 نانومتر است. در غلظت ثابتی از DNA ($8/32$ میکرومولار)، غلظت‌های مختلفی از نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه، حاوی پایدارکننده HNO_3 و حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به آن افزوده گردید و تغییرهای طیف جذبی DNA بررسی شد. همان‌گونه که در شکل ۱ مشاهده می‌گردد، با افزایش غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم جذب در 260 نانومتر افزایش می‌یابد (پدیده هایپرکرومیک). همچنین در هنگام افزودن نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه و حاوی پایدارکننده HNO_3 علاوه بر افزایش جذب، جابه‌جایی به سمت چپ (Blue shift) نیز مشاهده می‌گردد.

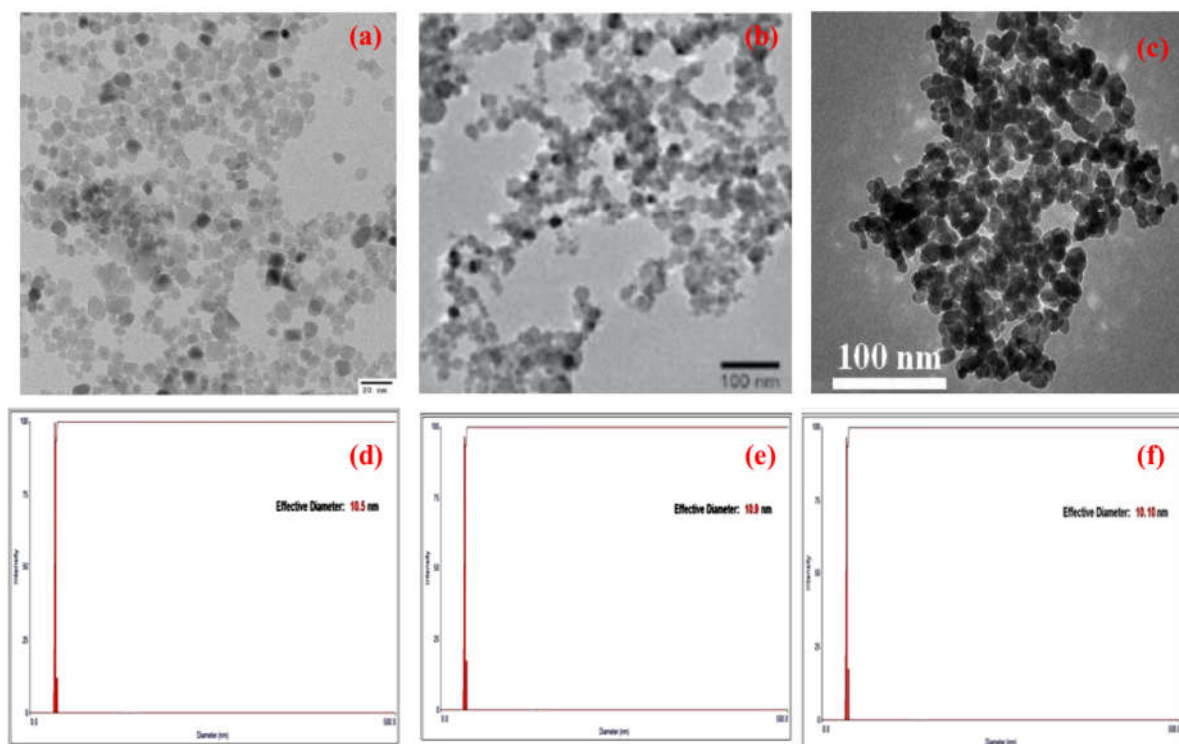
اسپکترومتر فلورسانس مدل هیتاچی MPF-7 (ساخت آمریکا) بررسی شد. جهت کنترل دما در طی هر آزمایش، از حمام مدل Protherms NTB-211 استفاده شد. طول موج تحریک در تمام طول آزمایش‌ها 490 نانومتر تنظیم گردید. غلظت نمونه DNA مورد مطالعه $8/32$ میکرومولار بود. ابتدا طیف فلورسانس نمونه DNA مورد بررسی قرار گرفت و سپس نشر فلورسانس نمونه DNA پس از افزودن غلظت‌های مختلف هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم ($3-19$ میکرومولار) در دمای 37 درجه سانتی‌گراد ثبت گردید. ضخامت کووت‌های کوارتز در آزمایش‌ها 1 سانتی‌متر و پهنای شکاف در تهیج و نشر به ترتیب 10 و 10 نانومتر تنظیم گردید. از آنجا که جذب اشعه توسط خاموش کننده موجب کاهش سیگنال تهیج و نشر (فیلتراسیون داخلی) می‌شود. جهت تصحیح اثر فیلتراسیون داخلی از معادله (۱) استفاده شد:

$$F_{corr} = F_{obs} \cdot 10^{(Ab_{ex} + Ab_{em})/2} \quad (1)$$

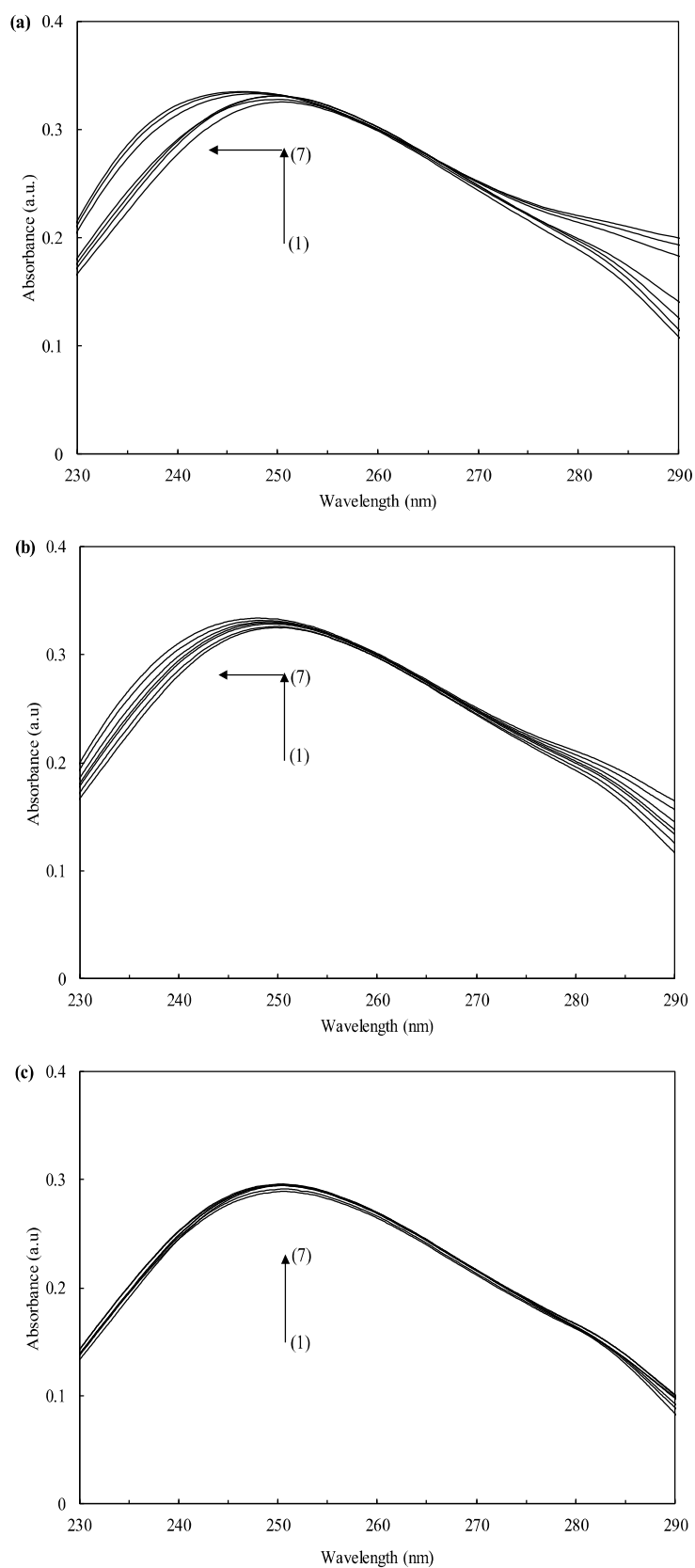
در این معادله F_{corr} و F_{obs} بیانگر شدت نشر فلورسانس مشاهده شده و شدت نشر فلورسانس تصحیح شده است. Ab_{em} و Ab_{ex} نیز به ترتیب بیانگر جذب محلول در طول موج‌های تهیج و نشر است.

مطالعه‌های طیف‌سنجی دورنگ نمایی دورانی (CD)

جهت مطالعه تغییرها در ساختار DNA در حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم طیف‌های CD با استفاده از طیف‌سنج دورنگ‌نمایی دورانی Model 215, Aviv (ساخت آمریکا) ثبت شد. ابتدا طیف CD نمونه DNA ($8/32$ میکرومولار) مورد بررسی قرار گرفت و سپس طیف‌های CD پس از افزودن هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (19 میکرومولار) در محدوده طول موج 220 تا 320 نانومتر با استفاده از کووت کوارتز، طول مسیر 1 سانتی‌متر، رزولوشن 0.2 نانومتر و سرعت اسکن 20 نانومتر در دقیقه در دمای 37 درجه سانتی‌گراد ثبت شد. از آنجا که چرخش نوری توسط مولکول‌های مواد فعال ایجاد می‌شود، میزان چرخش بستگی به تعداد مولکول‌هایی دارد که در مسیر نور قرار می‌گیرند، بنابراین مقدار چرخش، به طول مسیر عبور نور و



شکل ۱- تصاویر TEM برگرفته از شرکت‌های سازنده نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO₃، (a)، نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه (b) و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول (c) و طیف‌های DLS نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO₃ (d)، نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه (e) و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول (f).



شکل ۲- تغییرهای در میزان جذب نور فرابنفش DNA با افزایش غلظت (a) نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه، (b) نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO_3 و (c) نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد. (۱) DNA و (۲-۷) افزایش جذب نور فرابنفش با افزایش غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (۱۹-۳ میکرومولار)

مطالعه های نشر فلورسانس

از آنجا که طیف سنجی فلورسانس یک تکنیک بسیار قوی برای مطالعه ساختار و خصوصیت های ماکرومولکول موجود در محلول است، با کمک تکنیک فلورسانس مطالعه های تأثیر هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر روی DNA انجام یافت. شکل ۲ نشر نمونه حاوی DNA همراه با فلور DNA Green Viewer پس از افزودن نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه، حاوی پایدارکننده HNO_3 و حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول را نشان می دهد. همان گونه که مشاهده می شود میزان نشر فلورسانس DNA+DNA Green Viewer در بیشینه نشر (530 نانومتر) پس از افزودن هر سه نوع نانوذرات کاهش یافته و به عبارت دیگر نشر فلورسانس خاموش شده است.

تعیین پارامترهای اتصال

هنگامی که در محیط مولکول های تحریک شده حضور داشته باشند بسیاری از اتفاقات بین مولکول و محیط (حلال) روی می دهد که موجب تغییر در مشاهده نشر فلورسانس می شود. طبق گزارش های عوامل متعددی سبب کاهش شدت فلورسانس می گردد که از آن جمله، انتقال انرژی، انتقال بار، برخورد مولکول ها و یا ایجاد کمپلکس در حالت پایه را می توان نام برد. به کاهش در شدت نشر فلورسانس پدیده فرونشانی یا خاموشی (Quenching) گفته می شود (۱۴). جهت یافتن پارامترها و مکانیسم دخیل در پدیده خاموشی از معادله استرن-ولمر استفاده گردید (معادله ۲):

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{SV}[Q] \quad (2)$$

در معادله فوق F_0 و F به ترتیب بیانگر نشر فلورسانس DNA در غیاب و حضور هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم است. K_{SV} ثابت استرن-ولمر و $[Q]$ غلظت کل خاموش کننده (نانوذرات دی اکسید تیتانیوم) می باشد.

شکل ۳ نمودار استرن-ولمر یا میزان $\frac{F_0}{F}$ در مقابل غلظت خاموش کننده (نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش، حاوی پایدارکننده HNO_3 و حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول) را نشان می دهد. همان گونه که در شکل ۳

مشاهده می شود نمودارهای $\frac{F_0}{F}$ بر علیه هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم به صورت انحراف مثبت از خط راست به دست آمده است.

در مرحله بعد پارامترهای اتصال در دمای 37 درجه سانتی گراد با استفاده از رابطه مدیفای شده استرن ولمر (معادله ۳) تعیین شدند (۱۵).

(۳)

$$\log \frac{F_0 - F}{F} = \log K_a + n \log [Q]$$

در معادله فوق K_a ثابت اتصال ایجاد کمپلکس و n تعداد لیگندهای اتصال است که تعیین این پارامتر برای شناخت تعداد جایگاه های پیوندی مفید است.

سپس با استفاده از ثابت های اتصال به دست آمده و معادله ۴ مقدار انرژی آزاد گیبس (ΔG°) اتصال نانوذرات دی اکسید تیتانیوم به DNA محاسبه شد (۱۴).

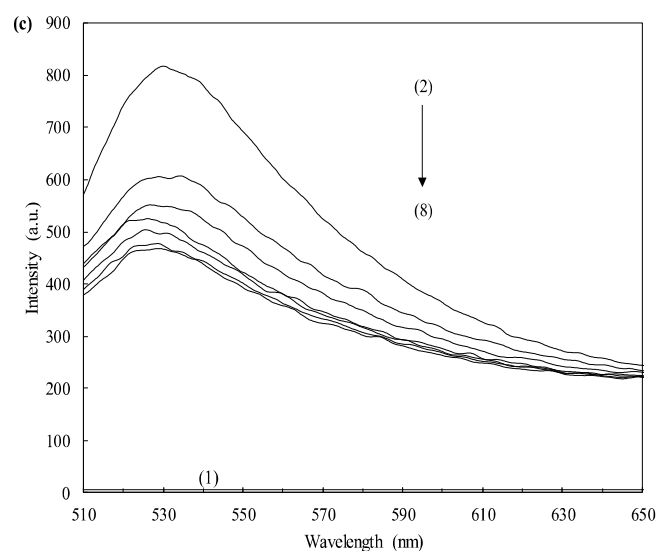
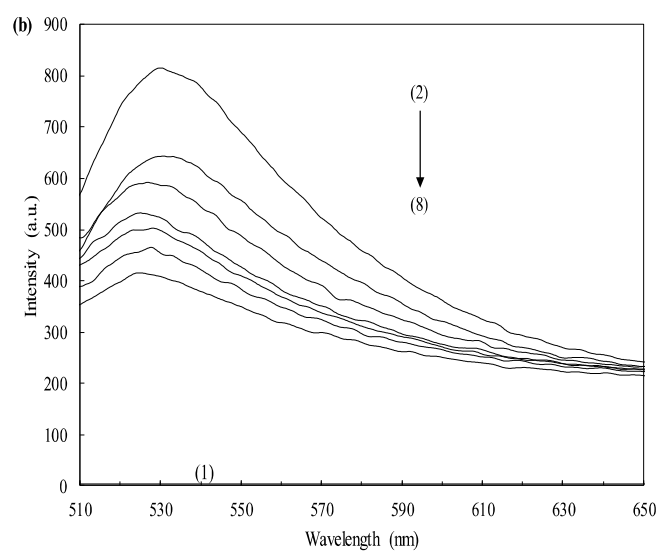
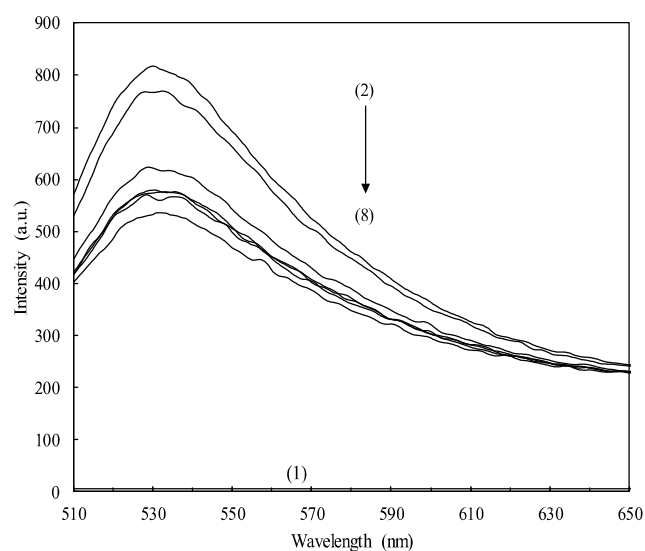
(۴)

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K$$

در رابطه فوق R ثابت عمومی گازها و T دمای مطلق است. مقادیر ΔG° محاسبه شده در جدول ۱ مرتب شده اند. مقدار ΔG° اتصال منفی به دست آمده بیانگر خودبه خودی بودن فرآیند اتصال هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم به DNA است (۱۶).

مطالعه های طیف سنجی دورنگ نمای دورانی (CD)

از آنجا که طیف سنجی دورنگ نمای دورانی، درباره تغییرهای ساختاری DNA در نتیجه تغییر شرایط آزمایش مانند دما و اتصال لیگاند اطلاعات بسیار مفیدی را ارائه می دهد، در این بخش از مطالعه تغییرهای ایجاد شده در ساختار DNA پس از افزودن نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه، حاوی پایدارکننده HNO_3 و حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول بررسی شد. طیف CD مربوط به DNA در دمای 37 درجه سانتی گراد در محدوده



شکل ۳- تغییرهایی در نشر DNA با افزایش غلظت (a) نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه، (b) نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO₃ و (c) نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد. (۱) نشر DNA، (۲) نشر DNA+DNA Green Viewer و (۳-۸) خاموشی نشر با افزایش غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (۳-۱۹ میکرومولار)

جدول ۱- پارامترهای ترمودینامیکی و اتصال نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه، نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO_3 و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم م حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول متصل شده به DNA در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد

$\Delta G^\circ (\text{kJ mol}^{-1})$	n	$K_a (\text{M}^{-1})$	
-۲۶/۰	۱/۱	$۲/۳ \times ۱۰^۴$	نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه
-۲۹/۹	۰/۷	$۱/۱ \times ۱۰^۵$	نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO_3
-۳۱/۷	۰/۶	$۲/۲ \times ۱۰^۵$	نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول

طول موج ۲۲۰ تا ۳۲۰ نانومتر در عدم حضور و حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با سرعت روبش طول موج ۲۰ نانومتر بر دقیقه، در شکل ۴ نشان داده شده است. همان گونه که مشاهده می شود پس از افزودن نانوذرات دی اکسید تیتانیوم تغییراتی در ساختار DNA مشاهده می گردد.

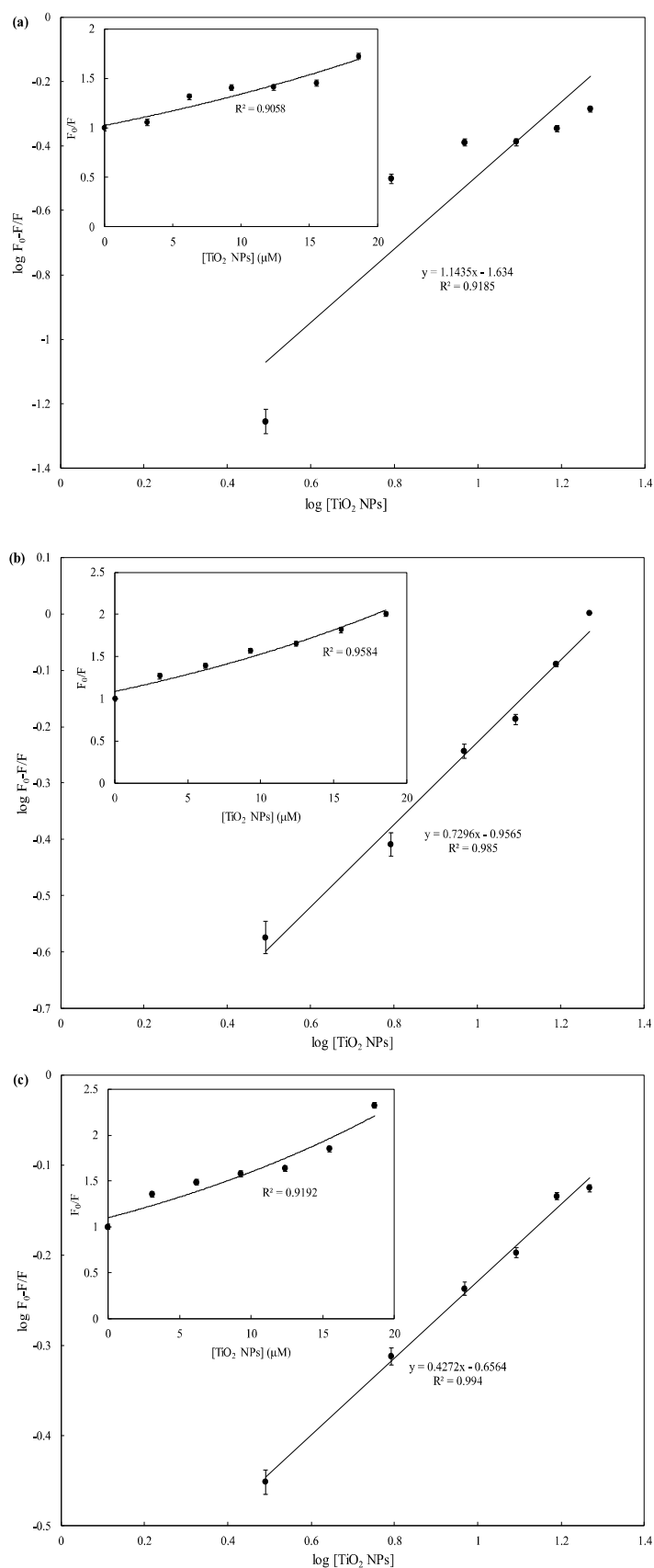
مطالعه های پتانسیل زتا

پتانسیل زتا، مقدار دافعه بین ذره مجاور را نشان می دهد. جدول ۲ پتانسیل زتا DNA را در غیاب و حضور هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم را نشان می دهد. میزان پتانسیل زتا در ماکرومولکول DNA برابر با $-۲۹/۹۸ \text{ mV}$ است. این مقدار با مطالعه های پیشین تطابق دارد (۱۷). همان گونه که مشاهده شد با افزودن نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش به DNA بار سطحی آن به مقدار اندک کاهش می یابد ($-۲۸/۴۵ \text{ mV}$). در حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO_3 نیز بار سطحی کاهش می یابد ($-۲۶/۲۳ \text{ mV}$) و در حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول میزان تغییر بار بیش تری مشاهده می گردد ($-۲۴/۶۰ \text{ mV}$).

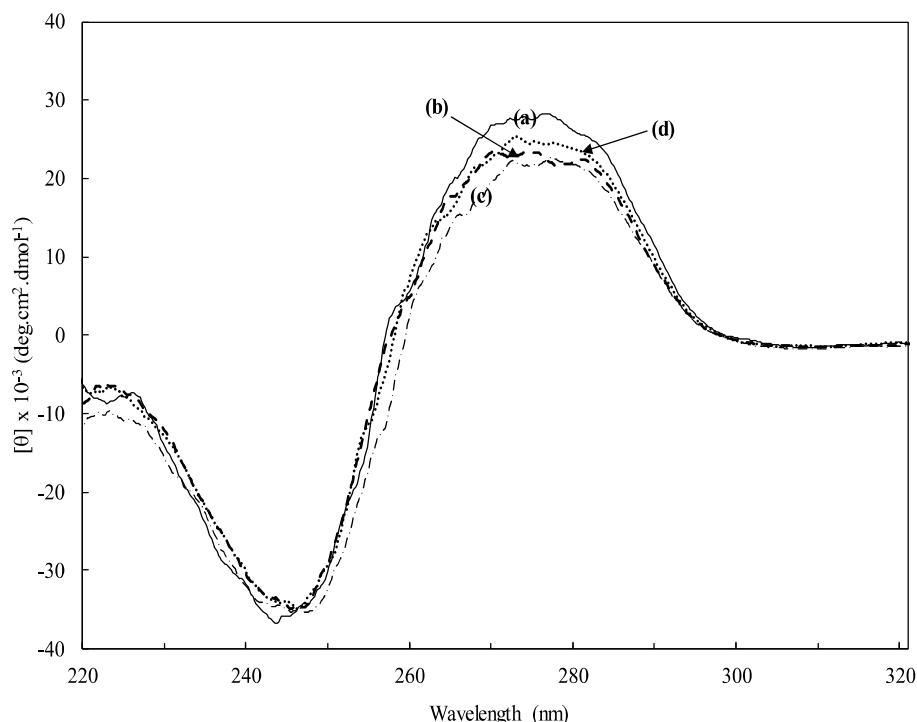
بحث

برهم کنش DNA (به عنوان یک ماکرومولکول حیاتی) با نانوذرات با توجه به اثرهای احتمالی آن ها بر سنتز، همانند سازش و ساختار DNA توجه دانشمندان را به خود جلب

کرده است (۱۳). یکی از ارکان مهم و کاربردی در استفاده از نانوذرات، روش سنتز و خصوصیت های شیمی فیزیکی آن ها است. اکسید تیتانیوم مهم ترین ترکیب تیتانیوم است. به این ترتیب تعجب آور نیست که در سال های اخیر، به بررسی اثر متقابل بین دی اکسید تیتانیوم به ویژه در فاز آنا تا ز با بیوماکرومولکول ها پرداخته شده است. پوشش یا اصلاح سطح نانوذرات توسط عوامل گوناگون مانند اتیلن گلیکول یا اسید نیتریک سبب تغییر در خصوصیت های فیزیکی و شیمیایی، میزان پایداری، میزان سمیت و حتی عملکرد نانوذرات می شود. مطالعه تأثیر اندازه، فاز بلورین و پوشش نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر میزان سمیت سلولی نشان داده است نه تنها نوع فاز بلورین و اندازه نانوذرات بلکه نوع پوشش و شکل نانوذرات دی اکسید تیتانیوم نیز در میزان سمیت تولید شده، کاهش رشد سلولی و در نهایت مرگ سلولی نقش کلیدی و مهمی را ایفا می نماید (۱۸). تکنیک هایی مانند طیفسنجی جذب UV-Vis، طیفسنجی فلورسانس، طیفسنجی CD و هم چنین اندازه گیری بار سطحی می تواند به مطالعه برهم کنش بین مولکول های کوچک و DNA کمک شایانی کند. در این مطالعه با استفاده از تکنیک های طیفسنجی به بررسی تأثیر نوع پوشش نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با اندازه و فاز یکسان بر ساختار DNA در شرایط *in vitro* پرداخته شد. برهم کنش بین مولکول های کوچک و DNA اغلب از طریق تغییرهایی در میزان جذب امواج ماوراء بنفش و تغییر طول



شکل ۴- نمودارهای $\log \frac{F_0 - F}{F}$ در مقابل غلظت برای تعیین مقادیر ثابت اتصال، نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه (a)، نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO₃ (b) و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول و (c) متصل شده به DNA در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد. نمودارهای الحاقی: نمودار F_0/F در مقابل غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم



شکل ۵- طیف CD مربوط به DNA در غیاب (a) و حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه (b)، نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO₃ (c) و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول (d) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد

جدول ۲- تغییرهای پتانسیل زتا ماکرومولکول DNA در غیاب و حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه، نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO₃ و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد

پتانسیل زتا (mV)	
-۲۹/۹۸	DNA
-۲۸/۴۵	نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه + DNA
-۲۶/۲۳	نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO ₃ + DNA
-۲۴/۶۰	نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول + DNA

هایپرکرومیک). هم‌چنین در هنگام افزودن نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه و حاوی پایدارکننده HNO₃ علاوه بر افزایش در جذب بیشینه جابه‌جایی به سمت چپ (Blue shift, Hypsochromism shift) نیز مشاهده شد. افزایش جذب در λ_{max} نشان دهنده تشکیل کمپلکس بین DNA و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم است. در معرض قرار گرفتن بازهای پورین و پیریمیدین DNA در هنگام افزوده شدن نانوذرات دی اکسید تیتانیوم و اتصال آن‌ها به DNA، نیز می‌تواند باعث افزایش جذب در λ_{max} ماکرومولکول DNA شود و در نتیجه در ساختار DNA تغییر ایجاد شود (۲۰). پدیده هایپرکرومیک در λ_{max}

طیف‌سنجی جذب الکترونی یکی از ضروری‌ترین و مؤثرترین روش‌ها جهت بررسی برهم‌کنش بین DNA و مولکول‌های کوچک است. DNA دارای جذب بیشینه (λ_{max}) شاخصی در طول موج ۲۶۰ نانومتر است و این بیشینه جذب مربوط به انتقالات $\pi \rightarrow \pi^*$ در بازهای آلی نیتروژن‌دار است (۱۹). در این مطالعه، غلظت‌های مختلفی از نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه، حاوی پایدارکننده HNO₃ و حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول به DNA در غلظتی ثابت افزوده گردید و تغییرهای طیف جذبی DNA بررسی شد. با افزایش غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم جذب در ۲۶۰ نانومتر افزایش یافت (پدیده

ماکرومولکول DNA هم چنین می تواند دلیل بر باز شدن ساختار دو رشته ای DNA و تک رشته ای شدن آن باشد (۲۱). پس از افزودن غلظت های افزایشی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه و حاوی پایدارکننده HNO_3 به محلول نمونه، جابجایی به سمت چپ نیز در λ_{max} ماکرومولکول DNA مشاهده می شود که دلالت بر برهم کنش این نوع نانوذرات با DNA و ایجاد پیوند غیر کووالانسی از نوع غیر اینترکلیشن (non-intercalation) دارد. به عبارت دیگر اتصال این نوع نانوذرات از طریق اتصال به شیارها (Groove binding) و یا اتصال به گروه های قند و فسفات DNA می تواند انجام پذیرد (۲۰). هم چنین پدیده هایپرکرومیک مشاهده شده در λ_{max} ماکرومولکول DNA هنگام افزودن نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول نیز بیانگر تغییر در ساختار DNA و ایجاد برهم کنش بین این نوع از نانوذرات و DNA از طریق غیر اینترکلیشن است (۲۲). Vujčić و همکاران (۲۳) نشان دادند که بارهای منفی موجود در ماکرومولکول DNA می تواند با بارهای مثبت دی اکسید تیتانیوم برهم کنش دهند و یک اکسیژن از دی اکسید تیتانیوم به صورت ROS آزاد شود که این امر خود باعث تغییر ساختار مولکول DNA می شود. Mukherjee و همکاران (۲۴) گزارش کردند در حضور captopril (داروی کنترل فشار خون)، پدیده هایپرکرومیک در جذب بیشینه DNA بدون هیچ گونه جابجایی مشاهده می گردد و پیشنهاد نمودند اتصال این دارو با شیارهای DNA (غیر اینترکلیشن) و از طریق برهم کنش الکترواستاتیک است. این امر با نتایج به دست آمده از این مطالعه تطابق دارد. بنابراین می توان نتیجه گرفت که اتصال هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با DNA به صورت غیر اینترکلیشن بوده و موجب تغییر ساختار DNA می گردد.

طیف سنجی فلورسانس یکی از روش های دقیق و قابل اعتماد جهت مطالعه تغییرهای ساختاری حاصل از برهم کنش مولکول های کوچک با DNA است. به طور معمول، زمانی که لیگاندهای کوچک به DNA متصل می شوند، می توانند تغییرهایی در شدت نشر فلورسانس ایجاد کنند

(۱۵). با استفاده از طیف سنجی فلورسانس، تغییرهای ساختاری در DNA به طور مؤثر می تواند مورد بررسی قرار گیرد. به طور معمول هرگاه لیگاند دومی در حال رقابت با لیگاند اول برای اتصال به جایگاه اتصال DNA باشد کاهش در شدت نشر فلورسانس دیده می شود (۱۵). به کاهش در شدت نشر فلورسانس پدیده فرونشانی یا خاموشی (Quenching) گفته می شود (۲۴). همان گونه که در شکل ۲ مشاهده می شود با افزایش غلظت هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم خاموشی در نشر بیشینه فلورسانس DNA-Rahban DNA Green Viewer™ مشاهده می گردد. همکاران (۲۵) در مطالعه ای به بررسی برهم کنش بین نانوذرات نقره و DNA تیموس گاوی توسط طیف سنجی فلورسانس پرداختند و مشاهده نمودند نشر فلورسانس اتیدیم برماید (به عنوان ماده فلورسانت عارضی) با افزایش غلظت نانوذرات نقره در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، کاهش قابل توجهی را نشان می دهد و بیان شد که بین نانوذرات نقره و DNA کمپلکس ایجاد شده است. مطالعه های فلورسانس کمپلکس Zn(II) -ایوبروفن با DNA نیز حاکی از کاهش نشر بیشینه فلورسانس DNA بود و بیان شد که بین روی-ایوبروفن با DNA کمپلکس ایجاد شده است (۲۰). بررسی پیوند Zn(II) با DNA با مطالعه های فلورسانس نیز نشان داد که شدت نشر فلورسانس DNA در حضور غلظت بالایی از Zn(II) کاهش می یابد و این گونه بیان شد که این کاهش نشر نشان دهنده اتصال قوی بین DNA و Zn(II) است (۱۹).

شدت نشر فلورسانس یک ترکیب می تواند تحت تأثیر انواع برهم کنش ها کاهش یابد. این برهم کنش ها، شامل برهم کنش های حالت تحریک شده (Excited state)، آرایش دوباره مولکولی، انتقال انرژی، ایجاد کمپلکس های حالت پایه (Ground state) و خاموشی تصادفی (Collisional quenching) است (۲۴). برخی مقاله ها پدیده خاموشی در نشر فلورسانس را به دو دسته بزرگ خاموشی دینامیک و خاموشی استاتیک تقسیم بندی می کنند. اساس تقسیم بندی فوق، چگونگی رابطه بین شدت نشر فلورسانس و غلظت خاموش کننده است که آیا به طور کامل با معادله استرن-

ولمر هم‌خوانی دارد (خاموشی دینامیک) یا ندارد (خاموشی استاتیک). تغییرها در نشر DNA-DNA Green Viewer™ با افزایش غلظت هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات، شدت نشر در طول موج ۵۳۰ نانومتر (بیشینه نشر فلورسانس) کاهش می‌یابد. این کاهش نشر، بیانگر اتصال نانوذرات به DNA است. همان‌گونه که در شکل ۳ مشاهده می‌شود نمودارهای استرن-ولمر برای هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم به صورت انحراف مثبت از خط راست به دست آمد. بنابراین در این پدیده (خاموشی نشر فلورسانس) سهم تشکیل کمپلکس غیر فلورسانس (خاموشی استاتیک) بیش از خاموشی دینامیک است (۲۶). به عبارت دیگر اتصال هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم به DNA از نوع استاتیک و تشکیل کمپلکس است. این نتایج با مطالعه‌های طیف‌سنجی جذبی مبنی بر ایجاد کمپلکس میان نانوذرات دی اکسید تیتانیوم و DNA تطابق دارد.

از آنجا که خاموشی نشر فلورسانس برای هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم از نوع استاتیک تشخیص داده شد، پارامترهای اتصال با استفاده از رابطه مدیفای شده استرن-ولمر تعیین شدند. مقادیر n و ثابت اتصال هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم به مولکول DNA متفاوت بوده و مقدار ثابت اتصال برای نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول ($2/2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) بیش‌تر از دو نوع نانو ذره دی اکسید تیتانیوم دیگر (M^{-1} و $2/3 \times 10^4$ برای نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه و $1/1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ برای نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO_3) به دست آمد. به عبارت دیگر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول تمایل بیش‌تری به اتصال با DNA نسبت به نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO_3 و نانوذرات بدون پوشش ویژه دارند. برطبق جدول ۱ مقدار ΔG° اتصال برای هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم منفی به دست آمد که بیانگر خودبه‌خودی بودن فرآیند اتصال هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با DNA

است (۱۶). همان‌گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود مقدار ΔG° برای نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول ($-31/7 \text{ kJ mol}^{-1}$) نسبت به دو نانوذره دی اکسید تیتانیوم دیگر بیش‌تر است که دلیل بر ایجاد کمپلکس قوی‌تر این نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با DNA است (۲۷).

به کمک طیف‌سنجی دورنگ نمایی دورانی می‌توان ساختمان فضایی ماکرومولکول‌ها را در محلول‌ها و همچنین برهم‌کنش‌های ماکرومولکولی را مطالعه نمود. طیف‌سنجی CD، درباره تغییرهای ساختاری DNA در هنگام اتصال لیگاند و یا تغییرهای دما اطلاعات بسیار مفیدی را ارائه می‌دهد (۲۸). طیف CD برای ماکرومولکول DNA در محدوده طول موج ۲۲۰ تا ۳۲۰ نانومتر در عدم حضور و حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه، حاوی پایدارکننده HNO_3 و حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول بررسی شد. بر طبق مقاله‌ها طیف B-DNA دارای دو بیشینه جذبی در طول موج‌های ۲۴۵ و ۲۷۵ نانومتر است، که به ترتیب مربوط به راست‌گردی و استکینگ بازهای DNA است (۲۸). در حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه، راست‌گردی تغییر شاخصی نمی‌کند اما استکینگ بازهای DNA کاهش می‌یابد. این امر در مورد نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO_3 و حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول نیز مشاهده می‌شود. همان‌گونه که مشاهده می‌شود تغییر در قله مثبت (۲۷۵ نانومتر) بسیار بیش‌تر از قله منفی (۲۴۵ نانومتر) است. این نتایج بیانگر اتصال نانوذرات دی اکسید تیتانیوم از طریق اتصال به شیارهای DNA است (۲۹). این نتیجه با نتایج مطالعه‌های جذبی به‌طور کامل تطابق دارد. قابل ذکر است که میزان تغییر در راست‌گردی در حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO_3 کمی بیش‌تر از نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول است.

پتانسیل الکتروستاتیک یا پتانسیل زتا اختلاف پتانسیل بین آخرین لایه محلول دربرگیرنده ذرات کلئید و اولین لایه غیرمتحرک از حلال اطراف ذرات کلئید است. پتانسیل زتا،

این مقدار برای نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول منفی تر است. مطالعه های طیفسنجی CD نشان داد در حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم استکینگ بازهای DNA کاهش می یابد اما راست-گردی در حضور هر سه نوع نانوذرات تغییر چندانی نشان نمی دهد. تغییرهای پتانسیل زتا در حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول بیش-تر بوده و میزان پتانسیل زتا نسبت به DNA بدون حضور نانوذرات کم تر شده است. تغییر در میزان بار و خنثی شدن گروه های فسفات می تواند موجب تغییر در ساختار مارپیچ DNA شود. با توجه به یافته های مشاهده شده نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول و بعد از آن نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO_3 با DNA برهمکنش قوی دارند و نانوذرات بدون پوشش نسبت به دو نوع دیگر نانوذرات تیتانیوم دی اکسید اتصال ضعیف تر با DNA دارند. نتایج این مطالعه بیانگر تاثیر نوع روش احیایی و پوشش انتخابی در هنگام سنتز نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در میزان برهمکنش نانوذرات با ماکرومولکول های حیاتی است و توجه به این نکته در طراحی نانوداروها و درمان سرطان و هدف قرار دادن مولکول DNA بسیار مهم است.

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری کارشناسان آزمایشگاه های زیست شناسی، شیمی فیزیک و شیمی تجزیه مجتمع آزمایشگاهی زکریای رازی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات در پیشبرد این پژوهش تشکر می گردد.

تعارض در منافع

نویسندگان هیچگونه تعارض منافی را اعلام نکرده اند.

مقدار دافعه بین ذره مجاور را نشان می دهد. میزان پتانسیل زتا اندازه گیری شده در DNA برابر با $-29/98 \text{ mV}$ - به دست آمد که با عدد گزارش شده در مطالعه های پیشین تطابق دارد (۱۷). تغییر پتانسیل زتا در حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم می تواند دلیل بر ایجاد برهمکنش از نوع الکترواستاتیک بین نانوذرات و DNA باشد. گزارش شده است که بارهای منفی DNA می تواند با بارهای مثبت دی اکسید تیتانیوم برهمکنش دهد (۲۳) و تغییر در میزان بار و خنثی شدن گروه های فسفات می تواند موجب تغییر در ساختار مارپیچ DNA شود (۲۴). این نتایج با نتایج به دست آمده از مطالعه های جذب امواج ماوراء بنفش تطابق دارد. به عبارت دیگر نانوذرات باعث تغییر در ساختار دو رشته ای DNA شده اند و بار سطحی DNA کاهش یافته است. برطبق نتایج به دست آمده تغییرات پتانسیل زتا (جدول ۲) در حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول بیش تر بوده و میزان پتانسیل زتا کم تر شده است. کاهش پتانسیل زتا DNA در حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول از $-29/98 \text{ mV}$ به $-24/60 \text{ mV}$ می تواند به علت ایجاد برهمکنش غیرکووالانسی و از نوع هیدروژنی با DNA باشد (۳۰). بنابراین نوع پوشش نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در میزان برهمکنش آنها با DNA نقش کلیدی و مهمی را ایفا می نماید. از آنجا که یکی از اهداف استفاده از نانوذرات در داروسازی و پزشکی درمان سرطان و هدف قرار دادن مولکول DNA است، توجه به نوع و پوشش نانوذره انتخاب شده بسیار مهم است.

نتیجه گیری

در این پژوهش برهمکنش نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در فاز آنا تاز (با سه پوشش متفاوت و اندازه متوسط ۱۰ نانومتر با DNA بررسی گردید. نتایج این مطالعه نشان داد نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول تمایل بیشتری برای اتصال با DNA دارند. مقدار ΔG° منفی بیانگر خودبه خودی بودن فرآیند اتصال نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با هر سه نوع پوشش با DNA است که

- 1- Hekmat A, Saboury AA, Divsalar A, Seyedarabi A. Structural effects of TiO₂ nanoparticles and doxorubicin on DNA and their antiproliferative roles in T47D and MCF7 cells. *Anti-Cancer Agent Me*, 2013; 13:932-951.
- 2- Disdier C, Chalansonnet M, Gagnaire F, et al. Brain inflammation, blood brain barrier dysfunction and neuronal synaptophysin decrease after inhalation exposure to titanium dioxide nano-aerosol in aging rats. *Sci. Rep.* 2017; 7:12196.
- 3- Textor M, Sittig C, Frauchiger V, Tosatti S, Brunette D. Titanium in medicine. Editors: D Brunette, P Tengvall, M Textor, P Thomsen Springer Verlag, Heidelberg and Berlin 2001:171.
- 4- Shukla RK, Kumar A, Gurbani D, Pandey AK, Singh S, Dhawan A. TiO₂ nanoparticles induce oxidative DNA damage and apoptosis in human liver cells. *Nanotoxicology*, 2013; 7:48-60.
- 5- Malekshahi Byranvand M, Nemati Kharat A, Fatholahi L, Malekshahi Beiranvand Z. A review on synthesis of nano-TiO₂ via different methods. *J. Nanostruct*, 2013; 3:1-9.
- 6- Jokerst JV, Lobovkina T, Zare RN, Gambhir SS. Nanoparticle PEGylation for imaging and therapy. *Nanomedicine*, 2011; 6:715-728.
- 7- Wang W, Xiong W, Wan J, Sun X, Xu H, Yang X. The decrease of PAMAM dendrimer-induced cytotoxicity by PEGylation via attenuation of oxidative stress. *Nanotechnology*, 2009; 20:105103.
- 8- Hu Y, Xie J, Tong YW, Wang C-H. Effect of PEG conformation and particle size on the cellular uptake efficiency of nanoparticles with the HepG2 cells. *J. Control Release*, 2007; 118:7-17.
- 9- Eck W, Craig G, Sigdel A, et al. PEGylated gold nanoparticles conjugated to monoclonal F19 antibodies as targeted labeling agents for human pancreatic carcinoma tissue. *ACS Nano*, 2008; 2:2263-2272.
- 10- Park E-J, Yoon J, Choi K, Yi J, Park K. Induction of chronic inflammation in mice treated with titanium dioxide nanoparticles by intratracheal instillation. *Toxicology*, 2009; 260:37-46.
- 11- Gao D, Tang S, Tong Q. Oleanolic acid liposomes with polyethylene glycol modification: promising antitumor drug delivery. *Int J. Nanomedicine*, 2012; 7:3517.
- 12- León A, Reuquen P, Garín C, et al. FTIR and Raman characterization of TiO₂ nanoparticles coated with polyethylene glycol as carrier for 2-methoxyestradiol. *Appl. Sci.*, 2017; 7:49.
- 13- Haq I. Thermodynamics of drug–DNA interactions. *Arch Biochem Biophys*, 2002; 403:1-15.
- 14- Hekmat A, Hajebrahimi Z, Motamedzade A. Structural Changes of Human Serum Albumin (HSA) in Simulated Microgravity. *Protein Peptide Lett.*, 2017; 24:1030-1039.

- 15- Hekmat A, Saboury AA, Divsalar A. The effects of silver nanoparticles and doxorubicin combination on DNA structure and its antiproliferative effect against T47D and MCF7 cell lines. *J. Biomed. Nanotechnol.*, 2012; 8:968-982.
- 16- Pashah Z, Hekmat A, Hesami Tackallou S. Structural effects of Diamond nanoparticles and Paclitaxel combination on calf thymus DNA. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 2019; 38:1-30.
- 17- Park I, Kim T, Park Y, et al. Galactosylated chitosan-graft-poly (ethylene glycol) as hepatocyte-targeting DNA carrier. *J Control Release*, 2001; 76:349-362.
- 18- Selli D, Valentin CD. Ab initio investigation of polyethylene glycol coating of TiO₂ surfaces. *The J. Phys. Chem. C*, 2016; 120:29190-29201.
- 19- Shahabadi N, Asadian AA, Mahdavi M. Intercalation of a Zn (II) complex containing ciprofloxacin drug between DNA base pairs. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 2017; 36:676-689.
- 20- Shahabadi N, Maghsudi M. Multi-spectroscopic and molecular modeling studies on the interaction of antihypertensive drug; methyl dopa with calf thymus DNA. *Mol Biosyst*, 2014; 10:338-347.
- 21- Vujčić MT, Tufegdžić S, Novaković I, Djikanović D, Gašić MJ, Sladić D. Studies on the interactions of bioactive quinone avarone and its methylamino derivatives with calf thymus DNA. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2013; 62:405-410.
- 22- D'Abramo M, Castellazzi CL, Orozco M, Amadei A. On the nature of DNA hyperchromic effect. *J Phys Chem B*, 2013; 117:8697-8704.
- 23- Awasthi P, Kumar N, Kaushal R, Kumar M, Kukreti S. Comparative In Vitro Binding Studies of TiCl₂ (dpme) 2, Ti (ada) 2 (bzac) 2, and TiCl₂ (bzac)(bpme) Titanium Complexes with Calf-Thymus DNA. *Biochem. Res. Int.*, 2015; 2015.
- 24- Mukherjee A, Singh B. Binding interaction of pharmaceutical drug captopril with calf thymus DNA: a multispectroscopic and molecular docking study. *J. Lumin.*, 2017; 190:319-327.
- 25- Rahban M, Divsalar A, Saboury AA, Golestani A. Nanotoxicity and spectroscopy studies of silver nanoparticle: calf thymus DNA and K562 as targets. *J. Phys. Chem. C*, 2010; 114:5798-5803.
- 26- Huang S, Qiu H, Lu S, Zhu F, Xiao Q. Study on the molecular interaction of graphene quantum dots with human serum albumin: combined spectroscopic and electrochemical approaches. *J. Hazard. Mater.*, 2015; 285:18-26.
- 27- Shamsi A, Ahmed A, Bano B. Probing the interaction of anticancer drug temsirolimus with human serum albumin: Molecular docking and spectroscopic insight. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 2017; 1-11.
- 28- Kypr J, Kejnovská I, Renčíuk D, Vorlíčková M. Circular dichroism and conformational polymorphism of DNA. *Nucleic Acids Res.*, 2009; 37:1713-1725.
- 29- Shahabadi N, Shiri F, Norouzibazaz M, Falah A. Disquisition on the interaction of ibuprofen-Zn (II) complex with calf thymus DNA by spectroscopic techniques and the use of Hoechst 33258 and Methylene blue dyes as spectral probes. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, 2018; 37:125-146.
- 30- Ragi C, Sedaghat-Herati M, Ouameur AA, Tajmir-Riahi H. The effects of poly (ethylene glycol) on the solution structure of human serum albumin. *Biopolymers*, 2005; 78:231-236.

31- Magrez A, Horváth L, Smajda R, et al. Cellular toxicity of TiO₂-based nanofilaments. *Acs Nano*, 2009; 3:2274-2280.