



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 (TiO_2 NPs) are being widely consumed in the nanotechnology industry and medicine. TiO_2 NPs are synthesized in various ways. The purpose of this study was to investigate the effect of coating in the synthesis of TiO_2 NPs 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 TiO_2 NPs with ethylene glycol dispersion matrix, TiO_2 NPs contains HNO_3 stabilizer and uncoated TiO_2 NPs.

Results: The Ultraviolet spectroscopy, fluorescence quenching and binding constants indicated that TiO_2 NPs with ethylene glycol dispersion matrix interacted with TiO_2 NPs with a higher binding constant value ($2.2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) compare with two other TiO_2 NPs ($2.3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ for uncoated TiO_2 NPs and $1.1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ for TiO_2 NPs contains HNO_3 stabilizer). The CD spectra indicated TiO_2 NPs have significant influence on the DNA base stacking. The zeta potential analysis showed the surface charge of DNA especially after the addition of TiO_2 NPs with ethylene glycol dispersion matrix (-24.60 mV) was reduced.

Conclusion: This study showed that TiO_2 NPs with ethylene glycol dispersion matrix interact with DNA more strongly compared with two other TiO_2 NPs. This study indicated that the type of coating of TiO_2 NPs 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 (TiO_2 NPs), 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^{*}، 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، انتستیتو پاستور، تهران، ایران

۳- گروه نانوبیوتکنولوژی، گروه فناوری های نوین، انتستیتو پاستور، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: در میان نانوذرات نیمه هادی، نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (TiO_2 NPs) به طور گسترده در صنایع نانوتکنولوژی و پزشکی مورد استفاده قرار گرفته اند. TiO_2 NPs از راه های مختلف سنتز می شوند. هدف از این مطالعه بررسی نقش نوع پوشش مورد استفاده در سنتز TiO_2 NPs برایجاد تغییرهای ساختاری DNA است.

مواد و روش ها: از طیف سنجی های جذبی ماوراء بنفش (UV)، فلورسانس و دورنگ نمایی دورانی (CD) به همراه 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 پایدار کننده HNO_3 و بدون پوشش استفاده گردید.

نتایج: مطالعات طیف سنجی UV، خاموشی فلورسانس و ثابت های اتصال نشان داد نانوذرات حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول ($2 \times 10^{-5} M^{-1}$) در مقایسه با دو نانوذره دیگر ($2/3 \times 10^{-4} M^{-1}$ برای TiO_2 NPs بدون پوشش ویژه و $1/1 \times 10^{-5} M^{-1}$ برای TiO_2 NPs حاوی پایدار کننده HNO_3)، می توانند برهم کنش قوی تر با DNA داشته باشند و موجب تغییر ساختار DNA شوند. طیف سنجی CD نشان داد در حضور TiO_2 NPs استکینگ بازه های DNA کاهش می یابد و مقدار پتانسیل زتا DNA در حضور TiO_2 NPs حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول کمتر شده است (-۲۴/۶۰ mV).

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

واژه های کلیدی: نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (TiO_2 NPs)، DNA، طیف سنجی، پتانسیل زتا، سنتز، IAU science

زیست سازگاری، پایداری شیمیابی و زیستی بالا در صنایع دارویی، پزشکی و محیط زیست استفاده می شوند. از میان نانوذرات نیمه رسانا، نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (TiO_2) به عنلت پایداری بالا، دارا بودن خاصیت فعال نوری و تمایل به

مقدمه

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

تاکنون 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 مایکروویو هیدروترمال، روش هیدروترمال به کمک امواج فرماصوتی، روش مکانوشیمیایی، رسوبدهی شیمیایی و الکتروشیمیایی و روش پلاسمای حرارتی با فرکانس رادیویی اشاره نمود (۶). پلی اتیلن گلیکول (PEG) یک پلیمر پیچ خورده از تکرار واحدهای اتیلن اتر با کنفورماتیون پویا است. علاوه‌بر این، PEG غیرسمی و غیرایمنی‌زا است و دارای فارماکوکنیک 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 رتیکولاندوتیال 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 ژن‌بسته به نوع سلول و تغییر سطح آن وابسته است (۱۰). پیگیله 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 به کار 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 زیستی، شناخته شده است. برهمنش DNA با

واکنش بالا در گستره وسیعی از صنایع مرتبط با فناوری نانو کاربرد دارد. عنصر تیتانیوم یک فلز واسطه با دانسیته کم، استحکام و درخشندگی بالا است. این عنصر در سال ۱۷۹۱ کشف گردید و توسط مارتین کلایپروت تیتان (خدای خورشید)، برگرفته از اساطیر یونانی) نام‌گذاری شد (۱-۳). بیش از ۹۰ درصد تیتانیوم استخراج شده به صورت 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 به صورت تتراگونال بوده و به علت کشیدگی شبکه بلورین آن به آناتاز یا کشیده معروف است. برخلاف دو فاز قبلی، فاز بروکیت به صورت ارتومبیک بوده و فعالیت نوری ندارد و کمیاب‌ترین فاز بلورین TiO_2 به شماره 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 روتیل دارد (3). 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، برهمنش با غشای سلول و پراکسید نمودن لیپیدهای غشایی، آزادسازی سیتوکروم C از میتوکندری و تأثیر بر تنظیم-کننده‌های چرخه سلولی موجب مرگ سلولی (آپاتوز) می‌گردد (۱،۴). نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در پزشکی، دارورسانی (Drug Delivery)، فوتودینامیک تراپی (PDT) و تصویربرداری کامپیوتوری از تومورها (CT) بسیار کاربرد دارند (۵).

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

مطالعه‌های طیف جذبی ماوراء بنفس

اندازه‌گیری جذب نور ماوراء بنفس توسط ماکرومولکول DNA، به منظور مطالعه تأثیر نوع پوشش انتخابی در هنگام سنتز نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در غلظت‌های مختلف بر ساختار DNA مورد بررسی قرار گرفت. جذب نور ماوراء بنفس با استفاده از اسپکتروفوتومتر مرئی-فرابنفس مدل پرکین EZ301 (ساخت آمریکا) بررسی شد. در ابتدا DNA با غلظت ۸/۳۲ میکرومولار آماده شد. با روشن طول موج در محدوده طول موج ۲۹۰-۲۳۰ نانومتر، مشخص گردید که DNA در محدوده بعد پس از افزودن غلظت‌های مختلف هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (۳-۱۹ میکرومولار) تغییرهایی در طیف جذبی DNA مطالعه شد. دمای انجام آزمایش‌ها ۳۷ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. در هنگام هر تیتراسیون محلول به خوبی هم زده شده و طیف جذبی هر تیتراسیون اندازه‌گیری می‌گردید.

مطالعه‌های طیف‌سنجدی نشر فلورسانس

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

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 حل نانوذرات می‌تواند در میزان برهمنکش نانوذرات با ماکرومولکول‌ها مؤثر باشد، لذا انجام مطالعه‌هایی که تأثیر نوع پوشش نانوذرات را بر میزان برهمنکش با DNA بررسی کند لازم و ضروری است. در این مطالعه به مقایسه تأثیر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (در فاز آناتاز) با ابعاد کمتر از ۱۰ نانومتر و سنتز شده به روش شیمیایی بر روی ساختار DNA با استفاده از تکنیک‌های طیف‌سنجدی پرداخته شد. این مطالعه می‌تواند 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 روش‌ها

مواد

ct-DNA (استخراج شده از تیموس گاو)، از شرکت سیگما آلدrijc (آمریکا) خردباری شد. نانوذرات دی اکسید تیتانیوم فاز آناتاز (پودر سفید رنگ، سنتز شده به روش شیمیایی، با اندازه ۴-۸ نانومتر، دارای پایدار کننده HNO_3 ، سطح ویژه $140 \text{ m}^2/\text{g}$ ، قابل حل در آب به صورت محلول کلؤیدی شفاف، غیر قابل حل در محلول‌های غیرقطبی و شماره کاتالوگ PL-TiO-NO (شکل a1 و d) از شرکت PlasmaChem GmbH (آلمان) تهیه شد. نانوذرات دی اکسید تیتانیوم فاز آناتاز (پودر، اندازه کمتر 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) خردبار شد. این نوع از نانوذرات پس از حل شدن در بافر تریس به مدت ۱۰ دقیقه سونیکه شدند. نانوذرات دی اکسید تیتانیوم فاز آناتاز (محلول شفاف، اندازه کمتر 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

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 برگیرنده ذرات کلوئید و اولین لایه غیر متحرک از حلal اطراف ذرات کلوئید را پتانسیل الکتروسینتیک یا پتانسیل زتا می‌نامند. پتانسیل زتا، مقدار دافعه بین ذره مجاور را نشان می‌دهد پتانسیل زتا نمونه‌های DNA ۸/۳۲ (میکرومولار) در حضور و عدم حضور هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم ۱۹ (میکرومولار) به‌وسیله دستگاه Zetasizer Nano-ZS مدل MALVERN (ساخت انگلیس) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد.

نتایج

مطالعه‌های طیف جذبی مأموراء بنفس

همان‌گونه که در شکل ۱ نشان داده شده است DNA دارای طیف جذبی شاخصی در ناحیه طول موج ۲۶۰ نانومتر است. در غلظت ثابتی از DNA ۸/۳۲ (میکرومولار)، غلظت‌های مختلفی از نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش و پوشش حاوی پایدارکننده HNO_3 و حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول در دمای ۳۷ 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 ۲۶۰ نانومتر افزایش می‌یابد (پدیده هایپرکرومیک). همچنین در هنگام افزودن نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش و پوشش حاوی پایدارکننده HNO_3 علاوه‌بر افزایش جذب، جابه‌جایی به سمت چپ (Blue shift) نیز مشاهده می‌گردد.

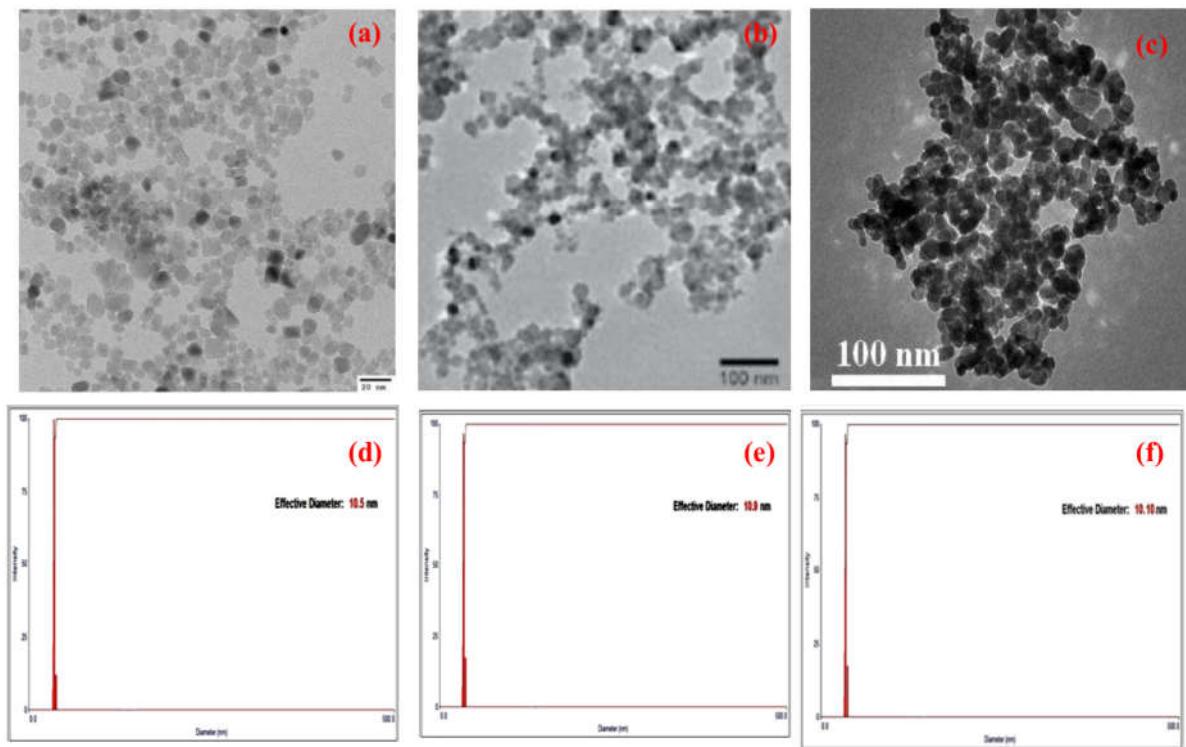
اسپکتروفومتر فلورسانس مدل هیتاچی MPF-7 (ساخت آمریکا) بررسی شد. جهت کنترل دما در طی هر آزمایش، از حمام مدل Protherms NTB-211 استفاده شد. طول موج تحریک در تمام طول آزمایش‌ها ۴۹۰ نانومتر تنظیم گردید. غلظت نمونه DNA مورد مطالعه ۸/۳۲ میکرومولار بود. ابتدا طیف فلورسانس نمونه DNA مورد بررسی قرار گرفت و سپس نشر فلورسانس نمونه DNA پس از افزودن غلظت‌های مختلف هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم ۳-۱۹ (میکرومولار) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد ثبت گردید. ضخامت کووت‌های کوارتز در آزمایش‌ها ۱ سانتی‌متر و پهنهای شکاف در تهییج و نشر به ترتیب ۱۰ و ۱۰ نانومتر تنظیم گردید. از آنجا که جذب اشعه توسط خاموش کننده موجب کاهش سیگنال تهییج و نشر (فیلتراسیون داخلی) می‌شود. جهت تصحیح اثر فیلتراسیون داخلی از معادله (۱) استفاده شد:

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

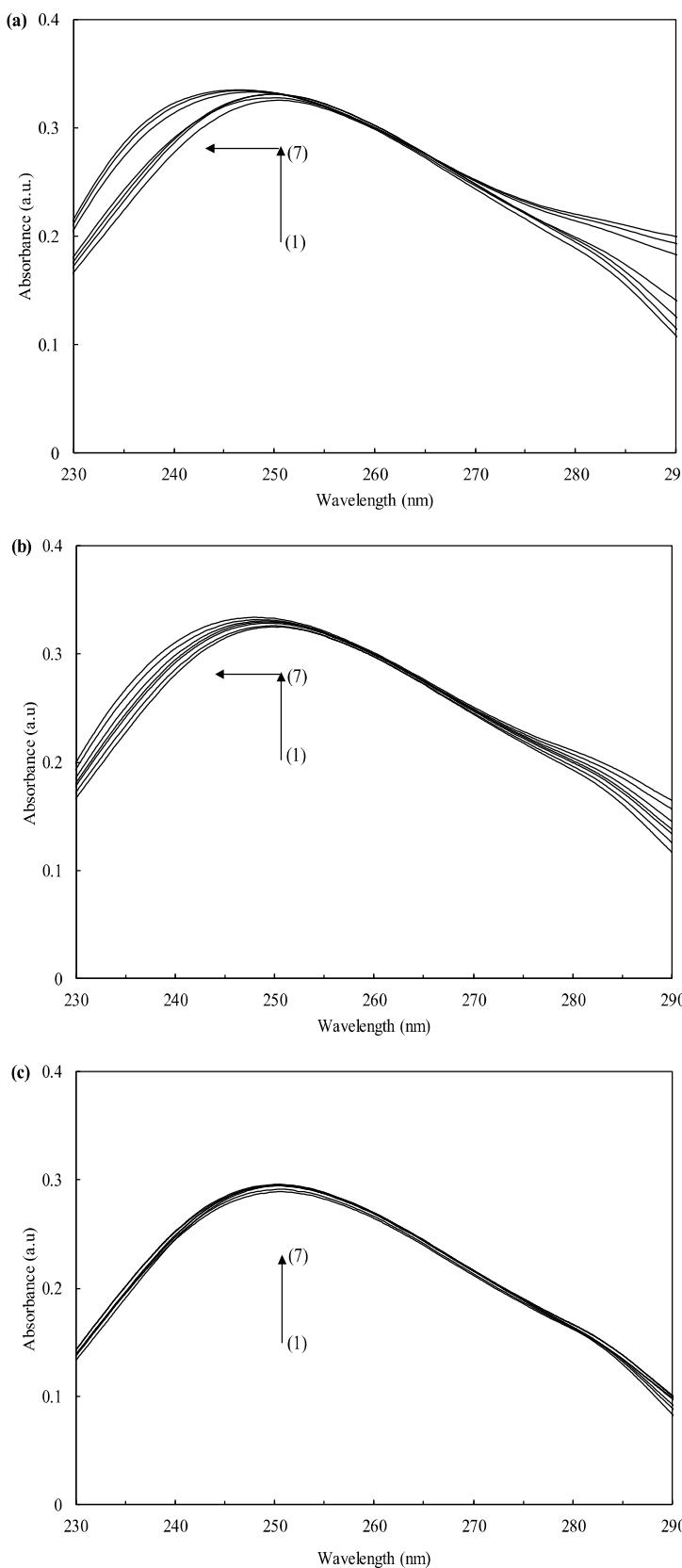
در این معادله F_{corr} و F_{obs} بیانگر شدت نشر فلورسانس مشاهده شده و شدت نشر فلورسانس تصحیح شده است. Ab_{em} و Ab_{ex} نیز به ترتیب بیانگر جذب محلول در طول موج‌های تهییج و نشر است.

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 Aviv Model 215 (ساخت آمریکا) ثبت شد. ابتدا طیف CD نمونه DNA ۸/۳۲ (میکرومولار) مورد بررسی قرار گرفت و سپس طیف‌های CD پس از افزودن هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم ۱۹ (میکرومولار) در محدوده طول موج ۲۲۰ تا ۳۲۰ نانومتر با استفاده از کووت کوارتز، طول مسیر ۱ سانتی‌متر، رزو لوشن ۲۰ نانومتر و سرعت اسکن ۲۰ نانومتر در دقیقه در دمای ۳۷ 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 HNO_3 (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 (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) افزایش جذب نور فرابنفش با افزایش غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (۳-۱۹ میکرومولار)

مطالعه‌های نشر فلورسانس

از آنجا که طیف‌سنجی فلورسانس یک تکنیک بسیار قوی برای مطالعه ساختار و خصوصیت‌های ماکرومولکول موجود در محلول است، با کمک تکنیک فلورسانس مطالعه‌های 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 پراکننده اتیلن گلیکول را نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود میزان نشر فلورسانس DNA+DNA Green Viewer در بیشینه نشر (۵۳۰ نانومتر) پس از افزودن هز سه نوع نانوذرات کاهش یافته و به عبارت دیگر نشر فلورسانس خاموش شده است.

تعیین پارامترهای اتصال

هنگامی که در محیط مولکول‌های تحریک شده حضور داشته باشند بسیاری از اتفاقات بین مولکول و محیط (حلال) روی می‌دهد که موجب تغییر در مشاهده نشر فلورسانس می‌شود. طبق گزارش‌های عوامل متعددی سبب کاهش شدت فلورسانس می‌گردد که از آن جمله، انتقال انرژی، انتقال بار، برخورد مولکول‌ها و یا ایجاد کمپلکس در حالت پایه را می‌توان نام برد. به کاهش در شدت نشر فلورسانس پدیده فرونشانی یا خاموشی (Quenching) گفته می‌شود (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) می‌باشد.

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 پراکننده اتیلن گلیکول) را نشان می‌دهد. همان‌گونه که در شکل ۳

مشاهده می‌شود 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 ۳۷ درجه سانتی‌گراد با استفاده از رابطه مذکو福 شده استرن ولمر (معادله ۳) تعیین شدند (۱۵).

(۳)

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

در معادله فوق K_a ثابت اتصال ایجاد کمپلکس و n تعداد لیگاندهای اتصالی است که تعیین این پارامتر برای شناخت تعداد جایگاه‌های پیوندی مفید است.

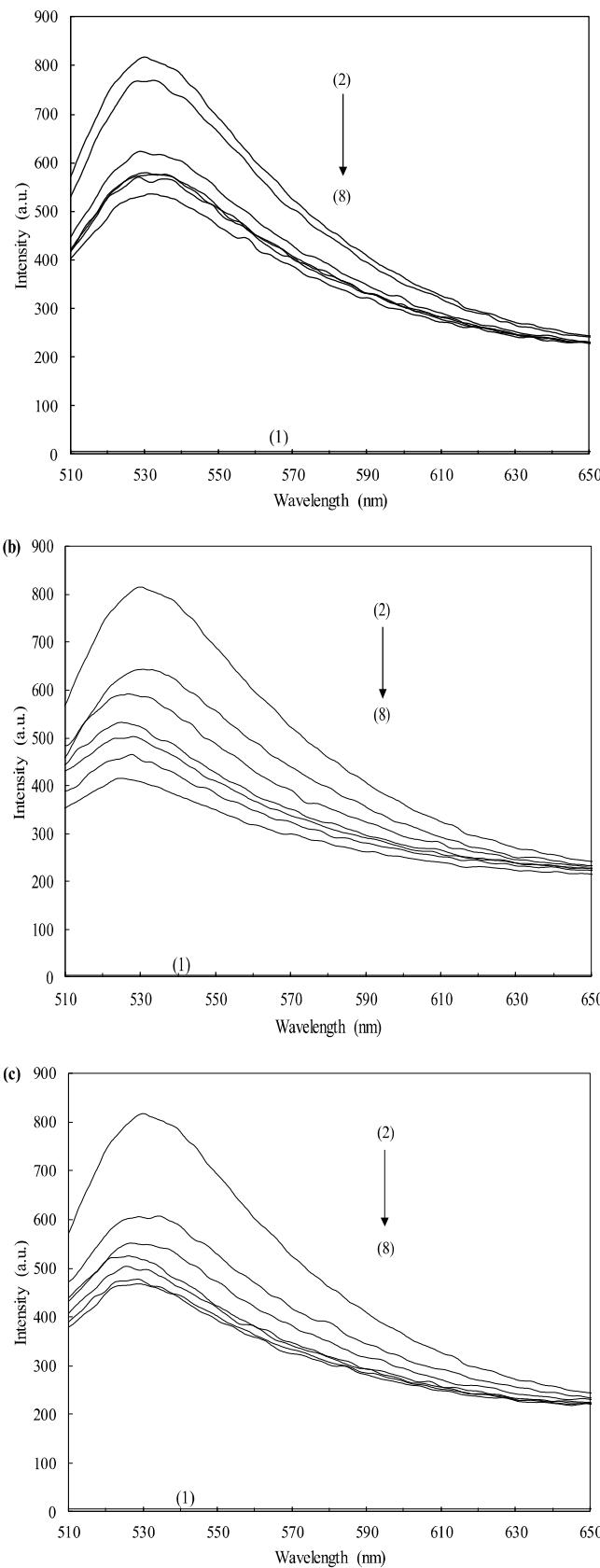
سپس با استفاده از ثابت‌های اتصال به دست آمده و معادله ۴ مقدار انرژی آزاد گیبس (ΔG°) اتصال نانوذرات دی اکسید تیتانیوم به DNA محاسبه شد (۱۴).

(۴)

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

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

مطالعه‌های طیف‌سنجی دورنگ نمایی دورانی (CD)
از آنجا که طیف‌سنجی دورنگ نمایی دورانی، درباره تغییرهای ساختاری DNA در نتیجه تغییر شرایط آزمایش مانند دما و اتصال لیگاند اطلاعات بسیار مفیدی را ارائه می‌دهد، 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 پراکننده اتیلن گلیکول بررسی شد. طیف CD مربوط به DNA در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد 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 و (c) نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد. (۱) نشر DNA، (۲) نشر HNO₃ و (۳) خاموشی نشر با افزایش غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (۳۹۶-۳ میکرومولار) و (۴-۸) خاموشی نشر با افزایش غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (۳۹۶-۳ میکرومولار) با DNA+DNA Green Viewer

جدول ۱- پارامترهای ترمودینامیکی و اتصالی 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

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

کرده است (۱۳). یکی از ارکان مهم و کاربردی در استفاده از نانوذرات، روش سنتز و خصوصیت‌های شیمی-فیزیکی آن‌ها است. اکسید تیتانیوم مهم‌ترین ترکیب تیتانیوم است. به این ترتیب تعجب‌آور نیست که در سال‌های اخیر، به بررسی اثر متقابل بین دی اکسید تیتانیوم بهویژه در فاز آناたاز با بیوماکرومولکول‌ها پرداخته شده است. پوشش یا اصلاح سطح نانوذرات توسط عوامل گوناگون مانند اتیلن گلیکول یا اسید نیتریک سبب تغییر در خصوصیت‌های فیزیکی و شیمیایی، میزان پایداری، میزان سمیت و حتی عملکرد نانوذرات می‌شود. 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 می‌نماید (۱۸). تکنیک‌هایی مانند طیفسنجی جذب UV-Vis طیفسنجی فلورسانس، طیفسنجی CD و همچنین اندازه‌گیری بار سطحی می‌تواند به مطالعه برهم‌کنش بین مولکول‌های کوچک و DNA کمک شایانی کند. در این مطالعه با استفاده از تکنیک‌های طیفسنجی به بررسی تأثیر نوع پوشش نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با اندازه و فاز یکسان بر ساختار DNA در شرایط *in vitro* پرداخته شد. برهم‌کنش بین مولکول‌های کوچک و DNA اغلب از طریق تغییرهایی در میزان جذب امواج مواره بنفس و تغییر طول

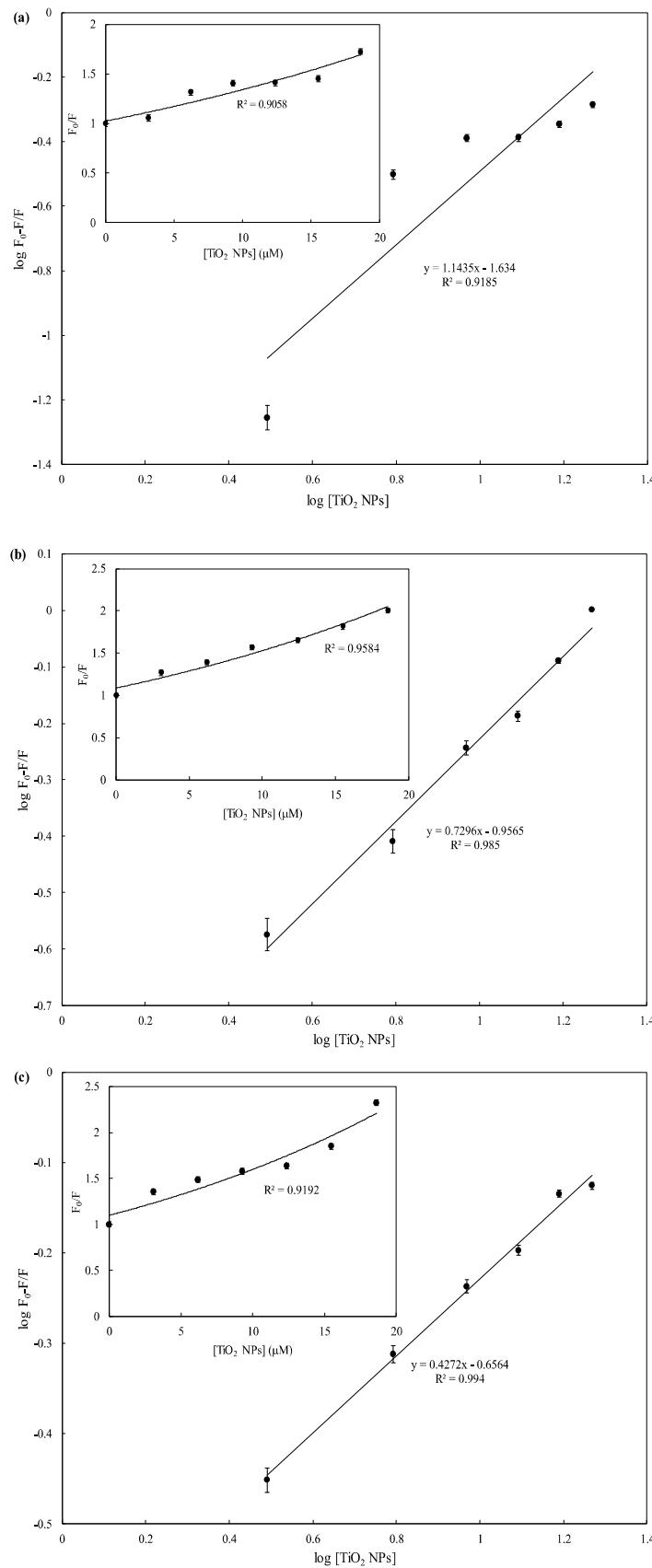
طول موج ۲۲۰ تا ۳۲۰ نانومتر در عدم حضور و حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با سرعت روبش طول موج ۲۰ نانومتر بر دقیقه، در شکل ۴ نشان داده شده است. همان- گونه که مشاهده می‌شود پس از افزودن نانوذرات دی اکسید تیتانیوم تغییراتی در ساختار DNA مشاهده می‌گردد.

مطالعه‌های پتانسیل زتا

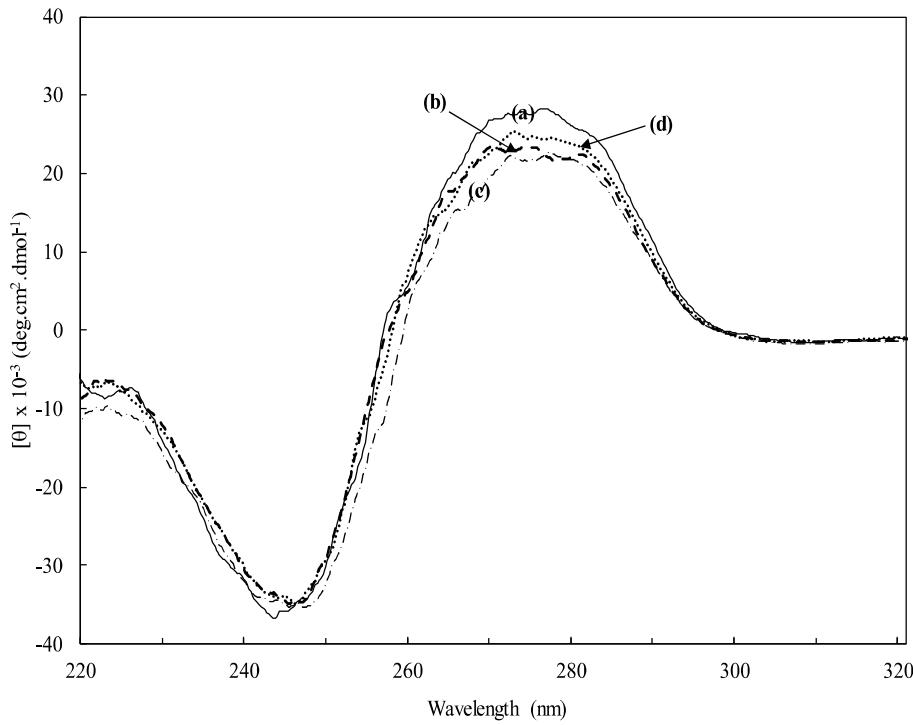
پتانسیل زتا، مقدار دافعه بین ذره مجاور را نشان می‌دهد. جدول ۲ پتانسیل زتا DNA را در غیاب و حضور هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم را نشان می‌دهد. میزان پتانسیل زتا در ماکرومولکول DNA برابر با $-29/98\text{ mV}$ است. این مقدار با مطالعه‌های پیشین تطابق دارد (۱۷). همان‌گونه که مشاهده شد با افزودن نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش به DNA بار سطحی آن به مقدار اندک کاهش می‌یابد ($-28/45\text{ mV}$). در حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO_3 نیز بار سطحی کاهش می‌یابد ($-26/23\text{ mV}$) و در حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکننده اتیلن گلیکول میزان تغییر بار بیشتری مشاهده می‌گردد ($-24/60\text{ mV}$).

بحث

برهم‌کنش DNA (به عنوان یک ماکرومولکول حیاتی) با نانوذرات با توجه به اثرهای احتمالی آن‌ها بر سنتز، همانند ساختار و سازمان DNA توجه داشته‌بود. این خود حل،



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 HNO_3 (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)
DNA	-۲۹/۹۸
نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه +	-۲۸/۴۵
DNA + HNO ₃	-۲۶/۲۳
نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول +	-۲۴/۶۰

هایپرکرومیک). همچنین در هنگام افزودن نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه و حاوی پایدارکننده HNO₃ علاوه بر افزایش در جذب بیشینه جایهایی 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 پریمیدین DNA در هنگام افزوده شدن نانوذرات دی اکسید تیتانیوم و اتصال آنها به DNA، نیز می‌تواند باعث افزایش جذب در λ_{max} DNA 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 افروده گردید و تغییرهای طیف جذبی DNA بررسی شد. با افزایش غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم جذب در ۲۶۰ نانومتر افزایش یافت (پدیده

(۱۵). با استفاده از طیفسنجی فلورسانس، تغییرهای ساختاری در DNA به طور مؤثر می‌تواند مورد بررسی قرار گیرد. به طور معمول هرگاه لیگاند دومی در حال رقابت با لیگاند اول برای اتصال به جایگاه اتصال DNA باشد کاهاش در شدت نشر فلورسانس دیده می‌شود (۱۵). به کاهاش در شدت نشر فلورسانس پدیده فرونشانی یا خاموشی (Quenching) گفته می‌شود (۲۴). همان‌گونه که در شکل ۲ مشاهده می‌شود با افزایش غلظت هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم خاموشی در نشر بیشینه فلورسانس-DNA و Rahban DNA Green ViewerTM مشاهده می‌گردد. همکاران (۲۵) در مطالعه‌ای به بررسی برهم‌کنش بین نانوذرات نقره و DNA تیموس گاوی توسط طیفسنجی فلورسانس پرداختند و مشاهده نمودند نشر فلورسانس اتیدیم بر ماید (به عنوان ماده فلورسانت عارضی) با افزایش غلظت نانوذرات نقره در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، کاهاش قابل توجهی را نشان می‌دهد و بیان شد که بین نانوذرات نقره و DNA کمپلکس ایجاد شده است. مطالعه‌های فلورسانس کمپلکس (Zn(II)-ایبوبروفن با DNA نیز حاکی از کاهاش نشر بیشینه فلورسانس DNA بود و بیان شد که بین روی-ایبوبروفن با DNA کمپلکس ایجاد شده است (۲۰). بررسی پیوند Zn(II) با DNA با مطالعه‌های فلورسانس نیز نشان داد که شدت نشر فلورسانس DNA در حضور غلظت بالایی از Zn(II) کاهاش می‌یابد و این‌گونه بیان شد که این کاهاش نشر نشان دهنده اتصال قوی بین Zn(II) و DNA است (۱۹).

شدت نشر فلورسانس یک ترکیب می‌تواند تحت تأثیر انواع برهم‌کنش‌ها کاهاش یابد. این برهم‌کنش‌ها، شامل برهم-کنش‌های حالت تحریک شده (Excited state)، آرایش دوباره مولکولی، انتقال انرژی، ایجاد کمپلکس‌های حالت پایه Collisional (Ground state) و خاموشی تصادفی (quenching) است (۲۴). برخی مقاله‌ها پدیده خاموشی در نشر فلورسانس را به دو دسته بزرگ خاموشی دینامیک و خاموشی استاتیک تقسیم‌بندی می‌کنند. اساس تقسیم‌بندی فوق، چگونگی رابطه بین شدت نشر فلورسانس و غلظت خاموش کننده است که آیا به طور کامل با معادله استرن-

ماکرومولکول DNA همچنین می‌تواند دلیل بر باز شدن ساختار دو رشته‌ای DNA و تک رشته‌ای شدن آن باشد (۲۱). پس از افروزن غلظت‌های افزایشی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه و حاوی پایدارکننده HNO₃ به محلول نمونه، جابجایی به سمت چپ نیز در λ_{max} ماکرومولکول DNA مشاهده می‌شود که دلالت بر برهم‌کنش این نوع نانوذرات با DNA و ایجاد پیوند غیر کوالانسی 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 گروه‌های قند و فسفات DNA می‌تواند انجام پذیرد (۲۰). همچنین 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 برهم‌کنش بین این نوع از نانوذرات و DNA و همکاران Vujčić (۲۲) نشان دادند که بارهای منفی موجود در ماکرومولکول DNA می‌تواند با بارهای مثبت دی اکسید تیتانیوم برهم-کنش دهنده و یک اکسیژن از دی اکسید تیتانیوم به صورت ROS آزاد شود که این امر خود باعث تغییر ساختار مولکول DNA می‌شود. Mukherjee و همکاران (۲۴) گزارش کردند در حضور captorpril (داروی کنترل فشار خون)، پدیده هایپرکرومیک در جذب بیشینه DNA بدون هیچ‌گونه جابجایی مشاهده می‌گردد و پیشنهاد نمودند اتصال این دارو با شیارهای DNA (غیر اینترکلیشن) و از طریق برهم‌کنش الکترواستاتیک است. این امر با نتایج بدست آمده از این مطالعه تطابق دارد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که اتصال هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با DNA به صورت غیر اینترکلیشن بوده و موجب تغییر ساختار DNA می‌گردد.

طیفسنجی فلورسانس یکی از روش‌های دقیق و قابل اعتماد جهت مطالعه تغییرهای ساختاری حاصل از برهم-کنش مولکول‌های کوچک با DNA است. به طور معمول، زمانی که لیگاندهای کوچک به DNA متصل می‌شوند، می‌توانند تغییرهایی در شدت نشر فلورسانس ایجاد کنند

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 برهمنکن‌های 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 مقایلهای 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 الکتروسینتیک یا پتانسیل زتا اختلاف پتانسیل بین آخرین لایه محلول در برگیرنده ذرات کلوئید و اولین لایه غیرمتحرک از حلال اطراف ذرات کلوئید است. پتانسیل زتا،

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 مدبایی 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 نانوذره دی اکسید تیتانیوم دیگر ($M^{-1} 2/3 \times 10^4$ 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 دارد. بر طبق جدول ۱ مقدار ΔG° اتصال برای هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم منفی به دست آمد که بیانگر خودبخودی بودن فرآیند اتصال هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با DNA

این مقدار برای نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول منفی‌تر است. مطالعه‌های طیفسنجی CD نشان داد در حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم استکینگ بازهای DNA کاهش می‌باید اما راست-گردی در حضور هر سه نوع نانوذرات تغییر چندانی نشان نمی‌دهد. تغییرهای پتانسیل زتا در حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول بیش‌تر بوده و میزان پتانسیل زتا در نسبت به DNA بدون حضور نانوذرات کمتر شده است. تغییر در میزان بار و خنثی شدن گروههای فسفات می‌تواند موجب تغییر در ساختار مارپیچ DNA شود. با توجه به یافته‌های مشاهده شده نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول و بعد از آن نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO₃ با DNA برهمنکش قوی دارند و نانوذرات بدون پوشش نسبت به دو نوع دیگر نانوذرات تیتانیوم دی اکسید اتصال ضعیفتر با DNA دارند. نتایج این مطالعه بیانگر تاثیر نوع روش احیایی و پوشش انتخابی در هنگام سنتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در میزان برهمنکش نانوذرات با ماکرومولکول‌های حیاتی است و توجه به این نکته در طراحی نانوداروها و درمان سرطان و هدف قرار دادن مولکول DNA بسیار مهم است.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از همکاری کارشناسان آزمایشگاه‌های زیست‌شناسی، شیمی‌فیزیک و شیمی تجزیه مجتمع آزمایشگاهی زکریایی رازی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات در پیشبرد این پژوهش تشکر می‌گردد.

تعارض در منافع

نویسنده‌گان هیچگونه تعارض منافعی را اعلام نکرده‌اند.

مقدار دافعه بین ذره مجاور را نشان می‌دهد. میزان پتانسیل زتا اندازه‌گیری شده در DNA برابر با $-29/98 \text{ mV}$ بودست آمد که با عدد گزارش شده در مطالعه‌های پیشین تطابق دارد (۱۷). تغییر پتانسیل زتا در حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم می‌تواند دلیل بر ایجاد برهمنکش از نوع الکترواستاتیک بین نانوذرات و DNA باشد. گزارش شده است که بارهای منفی DNA می‌تواند با بارهای مثبت دی اکسید تیتانیوم برهمنکش دهد (۲۳) و تغییر در میزان بار و خنثی شدن گروههای فسفات می‌تواند موجب تغییر در ساختار مارپیچ DNA شود (۲۴). این نتایج با نتایج بدست آمده از مطالعه‌های جذب امواج ماوراء بنفس تطابق دارد. به‌عبارت دیگر نانوذرات باعث تغییر در ساختار دو رشته‌ای DNA شده‌اند و بار سطحی DNA کاهش یافته است. برطبق نتایج به‌دست آمده تغییرات پتانسیل زتا (جدول ۲) در حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول بیش‌تر بوده و میزان پتانسیل زتا کمتر شده است. کاهش پتانسیل زتا در حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول از $-29/98 \text{ mV}$ به $-24/60 \text{ mV}$ می‌تواند به‌علت ایجاد برهمنکش غیرکووالانسی و از نوع هیدروژنی با DNA باشد (۳۰). بنابراین نوع پوشش نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در میزان برهمنکش آنها با DNA نقش کلیدی و مهمی را ایفا می‌نماید. 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.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش برهمنکش نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (در فاز آناتاز) 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 خودبه‌خودی بودن فرآیند اتصال نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با هر سه نوع پوشش با DNA است که

منابع

- 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; methyldopa 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, Renčík 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.