New Cell Mol Biotech
j.10/39 , 2020
Research article

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 Mohsenpour[1], Seyed Mohammad Atyabi[2], Haleh Bakhshandeh[3]

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_2NPs) are being widely consumed in the nanotechnology industry and medicine. TiO_2NPs are synthesized in various ways. The purpose of this study was to investigate the effect of coating in the synthesis of TiO_2NPs 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_2NPs with ethylene glycol dispersion matrix, TiO_2NPs contains HNO_3 stabilizer and uncoated TiO_2NPs.

Results: The Ultraviolet spectroscopy, fluorescence quenching and binding constants indicated that TiO_2NPs with ethylene glycol dispersion matrix interacted with TiO_2NPs with a higher binding constant value (2.2×10^5 M^{-1}) compare with two other TiO_2NPs (2.3×10^4 M^{-1} for uncoated TiO_2NPs and 1.1×10^5 M^{-1} for TiO_2NPs contains HNO_3 stabilizer). The CD spectra indicated TiO_2NPs have significant influence on the DNA base stacking. The zeta potential analysis showed the surface charge of DNA especially after the addition of TiO_2NPs with ethylene glycol dispersion matrix (-24.60 mV) was reduced.

Conclusion: This study showed that TiO_2NPs with ethylene glycol dispersion matrix interact with DNA more strongly compared with two other TiO_2NPs. This study indicated that the type of coating of TiO_2NPs 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_2NPs), 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

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.8.5]

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی
دوره ۱۰ - شماره -۳۹ تابستان ۱۳۹۹
مقاله پژوهشی

برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

تأثیر نوع پوشش نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در میزان اثرگذاری آن‌ها: برهم‌کنش 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 نانوبیوتکنولوی، 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 ($2/2\times10^5$ M^{-1}) در مقایسه با دو نانوذره دیگر ($2/3\times10^4$ M^{-1} برای TiO_2 NPs بدون پوشش ویژه و $1/1\times10^5$ 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 (۲۴/۶۰- mV).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد TiO_2 NPs حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول نسبت‌به 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_2NPs)، DNA، طیف‌سنجی، پتانسیل زتا، سنتز، IAU science

مقدمه

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، 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

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.8.5]

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 هنگامی‌که 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 توجه‌به مطالعه‌های انجام پذیرفته به‌نظر می‌رسد نانوذرات دی اکسید تیتانیوم از طریق تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS)، تخریب فعالیت میتوکندری سلول، برهم-کنش با غشای سلول و پراکسید نمودن لیپیدهای غشایی، آزادسازی سیتوکروم C از میتوکندری و تأثیر بر تنظیم-کننده‌های 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).

تاکنون روش‌های متعددی برای سنتز نانوذرات TiO_2 مورد استفاده قرار گرفته است که از آن جمله می‌توان به‌روش 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 فراصوتی، 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 کنفورماسیون پویا است. علاوه‌بر 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 رتیکولواندوتلیال 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 اثراهای ناشی از TiO_2بر 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 زیستی شناخته شده است. برهم‌کنش DNA با

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.8.5]

نانوذرات با توجه‌به 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 می‌تواند در میزان برهم‌کنش نانوذرات با ماکرومولکول‌ها مؤثر باشد، لذا انجام مطالعه‌هایی که تأثیر نوع پوشش نانوذرات را بر میزان برهم‌کنش با DNA بررسی کند لازم و ضروری است. در این مطالعه به مقایسه تاثیر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (در فاز آناتاز) با ابعاد کم‌تر از ۱۰ نانومتر و سنتز شده به‌روش شیمیایی بر روی ساختار DNA با استفاده از تکنیک‌های طیف‌سنجی 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 توجه‌به هدف کاربردی آنان یاری دهد.

مواد و روش‌ها

مواد

ct-DNA (استخراج شده از تیموس گاو)، از شرکت سیگما آلدریچ (آمریکا) خریداری شد. نانوذرات دی اکسید تیتانیوم فاز آناتاز (پودر سفید رنگ، سنتز شده به‌روش شیمیایی، با اندازه ۸-۴ نانومتر، دارای پایدارکننده HNO_3، سطح ویژه ۱۴۰ m^2/g، قابل حل در آب به‌صورت محلول کلوئیدی شفاف، غیر قابل حل در محلول‌های غیرقطبی و شماره کاتالوگ PL-TiO-NO) (شکل a۱ 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 ۱۵۰ m^2/g و سنتز شده به‌روش شیمیایی) (شکل b۱ 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 آناتاز (محلول شفاف، اندازه کم‌تر از ۱۰ نانومتر، ۹۹ ٪ خلوص، سطح ویژه ۱۵۰ m^2/g، کروی شکل، حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول، سنتز شده به‌روش شیمیایی و شماره تولید US7832) (شکل c۱ 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 اندازه‌گیری پراکندگی نور پویا (DLS) Brookhaven 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 بنفش

اندازه‌گیری جذب نور ماوراء بنفش توسط ماکرومولکول DNA، به‌منظور 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 بنفش با استفاده از اسپکتروفتومتر مرئی-فرابنفش 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 ۲۹۰-۲۳۰ نانومتر، مشخص گردید که DNA در محدوده ۲۶۰ نانومتر دارای جذب مشخص است. در مرحله بعد پس از افزودن غلظت‌های مختلف هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (۱۹-۳ میکرومولار) تغییرهایی در طیف جذبی DNA مطالعه شد. دمای انجام آزمایش‌ها ۳۷ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. در هنگام هر تیتراسیون محلول به‌خوبی هم زده شده و طیف جذبی هر تیتراسیون اندازه‌گیری می‌گردید.

مطالعه‌های طیف‌سنجی نشر فلورسانس

اندازه‌گیری شدت نشر فلورسانس DNA، به‌منظور 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

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.8.5]

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 (۱۹-۳ میکرومولار) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد ثبت گردید. ضخامت کووت‌های کوارتز در آزمایش‌ها ۱ سانتی‌متر و پهنای شکاف در تهیج و نشر به‌ترتیب ۱۰ و ۱۰ 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:

$$F_{corr} = F_{obs}.10^{(Ab_{ex}+Ab_{em})/2} \quad (۱)$$

در این معادله F_{obs} و F_{corr} بیانگر شدت نشر فلورسانس مشاهده شده و شدت نشر فلورسانس تصحیح شده است. Ab_{ex} و Ab_{em} نیز به‌ترتیب 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 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، رزولوشن ۰/۲ 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 غلظت محلول بستگی دارد. بدین علت نتایج بر حسب بیضی‌واری مولی ($deg\ cm^2\ dmol^{-1}$) ارائه شد.

مطالعه‌های پتانسیل زتا (ζ)

اختلاف پتانسیل بین آخرین لایه محلول در برگیرنده ذرات کلوئید و اولین لایه غیر متحرک از حلال 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.

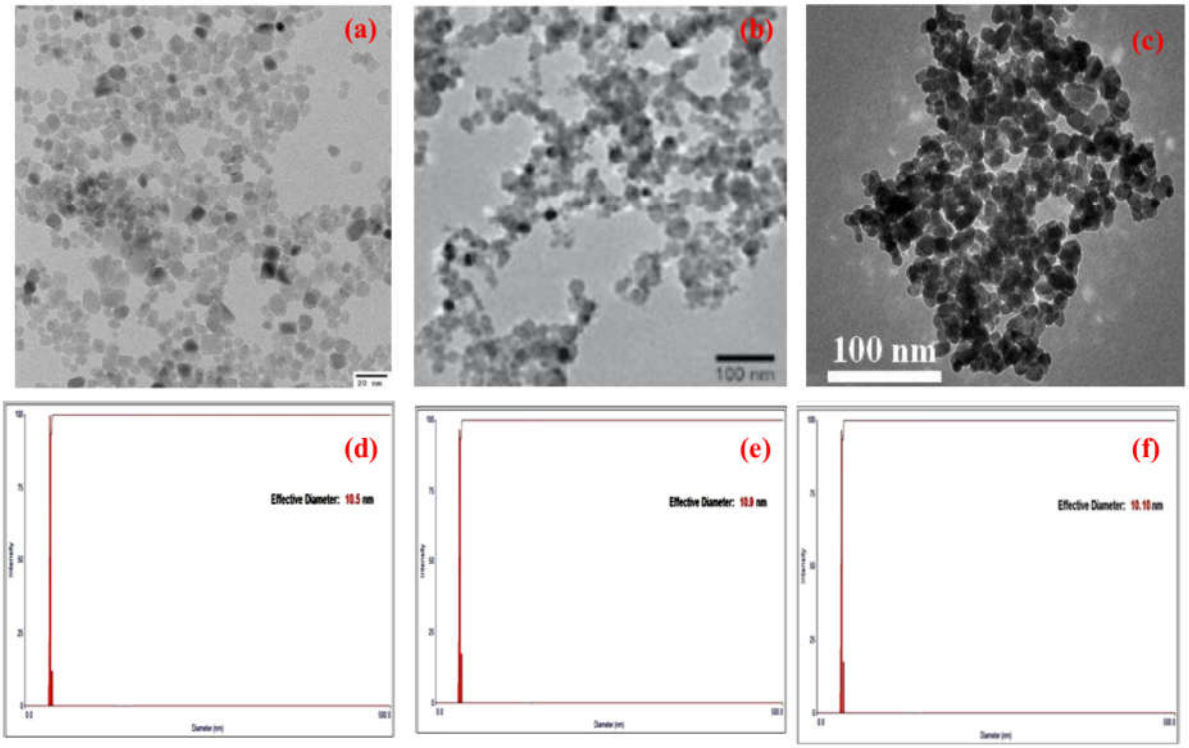
نتایج

مطالعه‌های طیف جذبی ماوراء بنفش

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 ویژه، 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 ویژه و حاوی پایدارکننده HNO_3 علاوه‌بر افزایش جذب، جابه‌جایی به سمت چپ (Blue shift) نیز مشاهده می‌گردد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

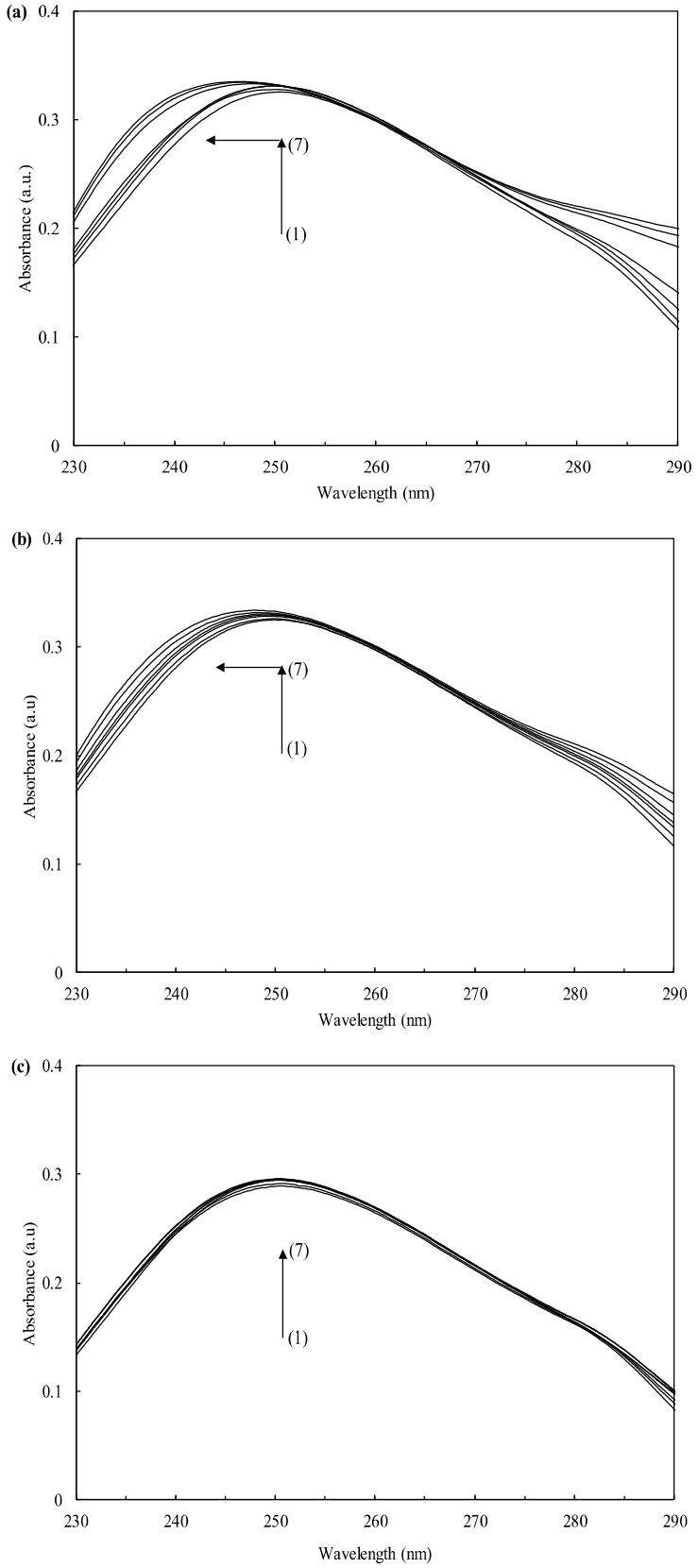
[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.8.5]



شکل ۱- تصاویر TEM برگرفته از شرکت‌های سازنده نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO_3 (a)، نانوذراتدی 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 HNO_3 (d)، نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه (e) و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول (f).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.8.5]



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

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.8.5]

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 پراکنده 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

هنگامی‌که 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):

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{SV}[Q] \qquad (۲)$$

در معادله فوق F_0 و F به‌ترتیب 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 پراکنده 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 به‌دست آمده است.

در مرحله بعد پارامترهای اتصال در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد 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 لیگاندهای اتصالی است که تعیین این پارامتر برای شناخت تعداد جایگاه‌های پیوندی مفید است.

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

(۴)

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

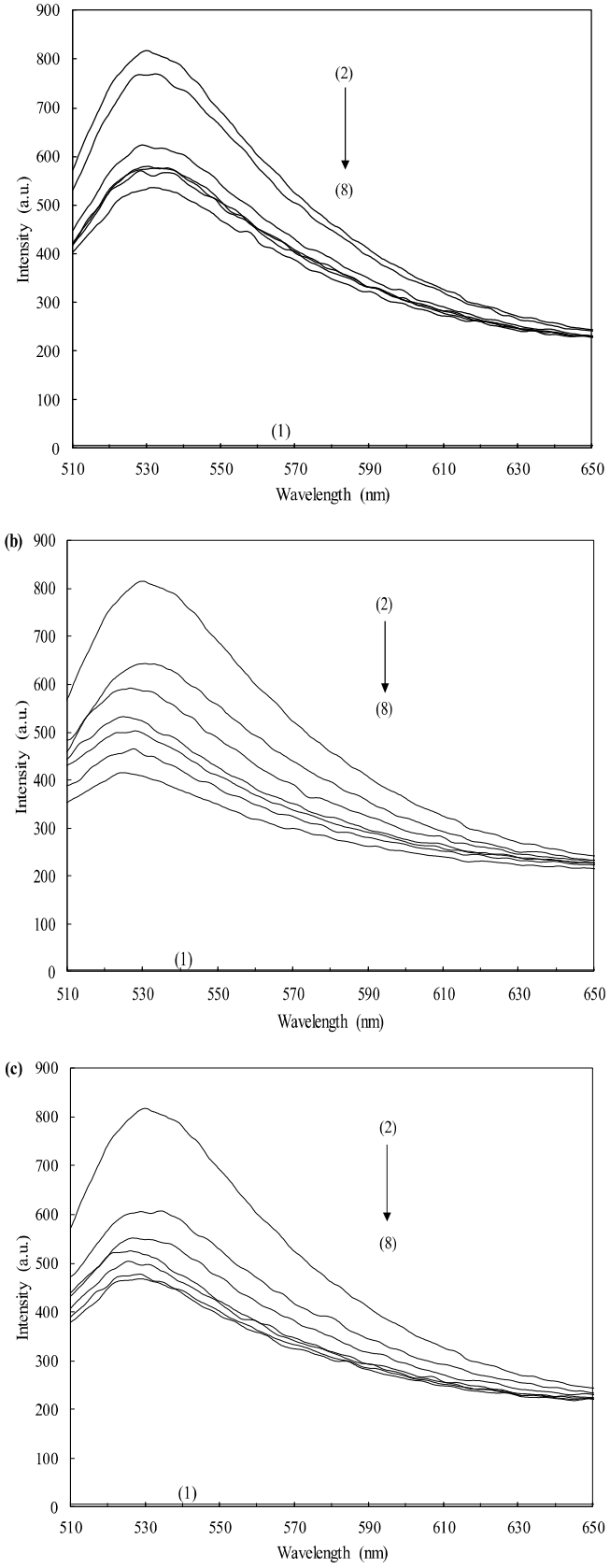
در رابطه فوق R ثابت عمومی گازها و T دمای مطلق است. مقادیر ΔG° محاسبه شده در جدول ۱ مرتب شده‌اند. مقدار ΔG° اتصال منفی به‌دست آمده بیانگر خودبه‌خودی بودن فرآیند اتصال هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با DNA است (۱۶).

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 پراکنده اتیلن گلیکول بررسی شد. طیف CD مربوط به DNA در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در محدوده

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.8.5]



شکل ۳- تغییرهایی در نشر 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 سانتی‌گراد. (۱) نشر DNA، (۲) نشر DNA+DNA Green Viewer و (۳-۸) خاموشی نشر با افزایش غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (۳-۱۹ میکرومولار)

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.8.5]

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 سانتی‌گراد

	K_a (M^{-1})	n	$\Delta G°$ (kJ mol^{-1})
نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه	$۲/۳\times۱۰^{۴}$	۱/۱	-۲۶/۰
نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO_3	$۱/۱\times۱۰^{۵}$	۰/۷	-۲۹/۹
نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول	$۲/۲\times۱۰^{۵}$	۰/۶	-۳۱/۷

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. همان‌گونه 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 ۲۹/۹۸ 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 (۲۸/۴۵ mV-). در حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO_3 نیز بار سطحی کاهش می‌یابد (۲۶/۲۳ mV-) و در حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول میزان تغییر بار بیش‌تری مشاهده می‌گردد (۲۴/۶۰ mV-).

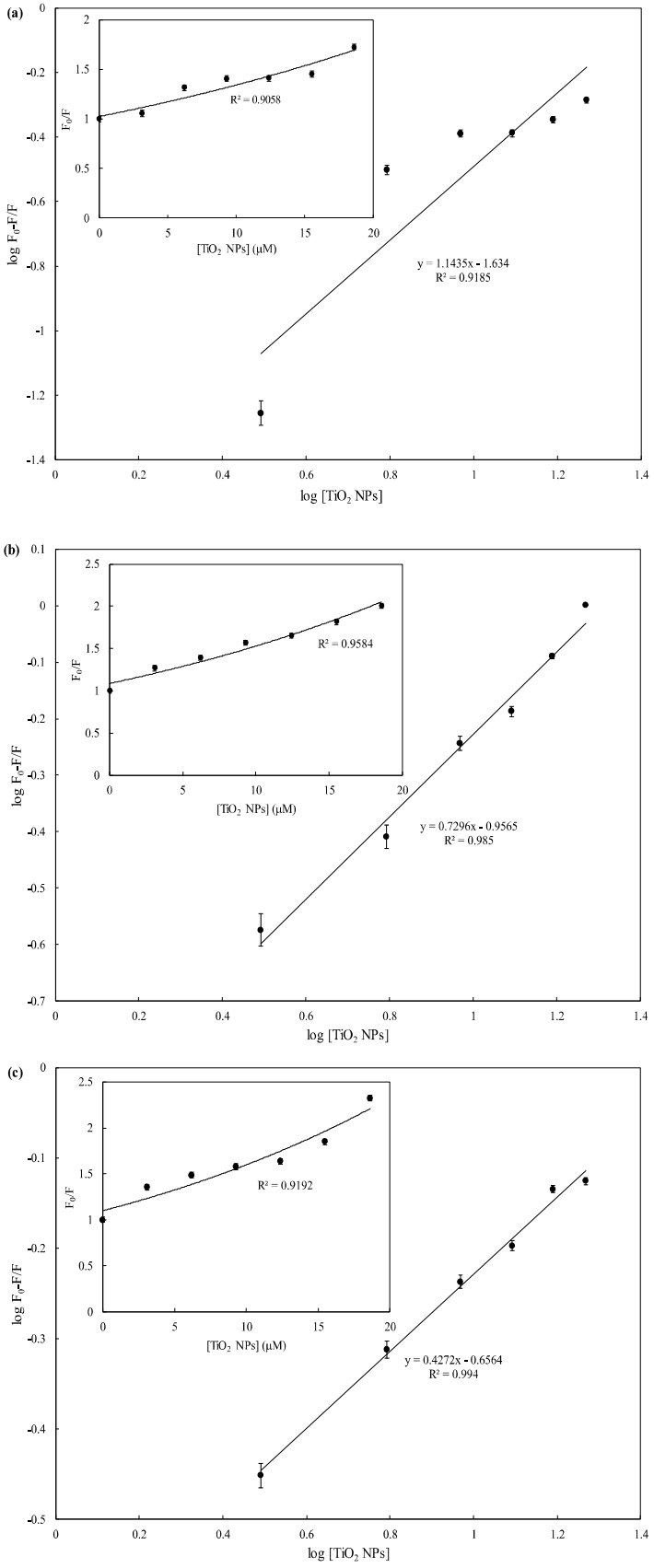
بحث

برهم‌کنش DNA (به‌عنوان یک ماکرومولکول حیاتی) با نانوذرات با توجه به اثرهای احتمالی آن‌ها بر سنتز، همانند

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 آناتاز 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 ماوراء بنفش و تغییر طول

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

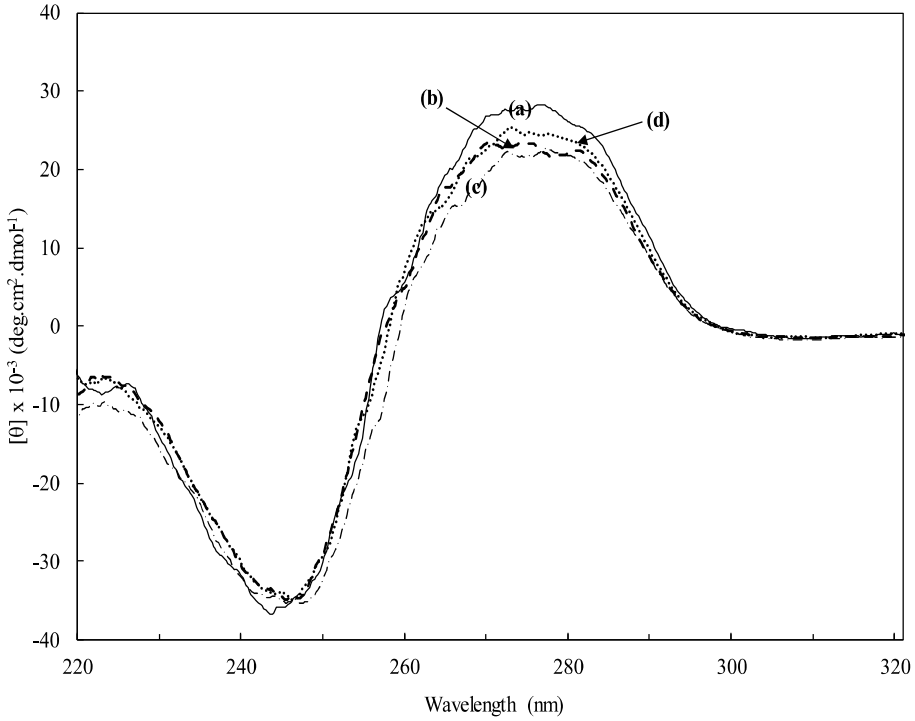
[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.8.5]



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 سانتی‌گراد. نمودارهای الحاقی: نمودار F_0/F در مقابل غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.8.5]



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 HNO_3 (c) و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول (d) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد

جدول ۲- تغییرهای پتانسیل زتا ماکرومولکول DNA در غیاب و حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه، نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO_3 و نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد

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

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 HNO_3 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 هایپرکرومیک). هم‌چنین در هنگام افزودن نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه و حاوی پایدارکننده HNO_3 علاوه‌بر 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 پریمیدین 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}

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.8.5]

ماکرومولکول DNA هم‌چنین می‌تواند دلیل بر باز شدن ساختار دو رشته‌ای DNA و تک رشته‌ای شدن آن باشد (۲۱). پس از افزودن غلظت‌های 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 می‌شود که دلالت بر برهم‌کنش این نوع نانوذرات با DNA و ایجاد پیوند غیر کووالانسی از نوع غیر اینترکلیشن (non-intercalation) دارد. به‌عبارت 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 از طریق غیر اینترکلیشین است (۲۲). Vujčić و همکاران (۲۳) نشان دادند که بارهای منفی موجود در ماکرومولکول DNA می‌تواند با بارهای مثبت دی اکسید تیتانیوم برهم‌کنش دهند و یک اکسیژن از دی اکسید تیتانیوم به‌صورت ROS آزاد شودکه این امر خود باعث تغییر ساختار مولکول DNA می‌شود. Mukherjee و همکاران (۲۴) گزارش کردند در حضور captopril (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 اینترکلیشین) و از طریق برهم‌کنش الکترواستاتیک است. این امر با نتایج به‌دست آمده از این مطالعه تطابق دارد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که اتصال هر سه نوع نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با DNA به‌صورت غیر اینترکلیشین بوده و موجب تغییر ساختار DNA می‌گردد.

طیف‌سنجی فلورسانس یکی از روش‌های دقیق و قابل اعتماد جهت مطالعه تغییرهای ساختاری حاصل از برهم‌کنش مولکول‌های کوچک با DNA است. به‌طور معمول، زمانی‌که لیگاندهای کوچک به DNA متصل می‌شوند، می‌توانند تغییرهایی در شدت نشر فلورسانس ایجاد کنند (۱۵). با استفاده از طیف‌سنجی فلورسانس، تغییرهای ساختاری در DNA به‌طور مؤثر می‌تواند مورد بررسی قرار گیرد. به‌طور معمول هرگاه لیگاند دومی در حال رقابت با لیگاند اول برای اتصال به جایگاه اتصال DNA باشد کاهش در شدت نشر فلورسانس دیده می‌شود (۱۵). به کاهش 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-DNA Green Viewer™ مشاهده می‌گردد. Rahban و همکاران (۲۵) در مطالعه‌ای به بررسی برهم‌کنش بین نانوذرات نقره و DNA تیموس گاوی توسط طیف‌سنجی فلورسانس پرداختند و مشاهده نمودند نشر فلورسانس اتیدیم برماید (به‌عنوان ماده فلورسانت عارضی) با افزایش غلظت نانوذرات نقره در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، کاهش 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 کاهش 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) کاهش می‌یابد و این‌گونه بیان شد که این کاهش نشر نشان دهنده اتصال قوی بین DNA و Zn (II) است (۱۹).

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

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.8.5]

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 به‌صورت انحراف مثبت از خط راست به‌دست آمد. بنابراین در این پدیده (خاموشی نشر فلورسانس) سهم تشکیل کمپلکس غیر فلورسانس (خاموشی استاتیک) بیش از خاموشی دینامیک است (۲۶). به‌عبارت 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 ($۲/۲\times۱۰^{۵}$ M^{-1}) بیش‌تر از دو نوع نانو ذره دی اکسید تیتانیوم دیگر (M^{-1} $۲/۳\times۱۰^{۴}$ برای نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بدون پوشش ویژه و M^{-1} $۱/۱\times۱۰^{۵}$ برای نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حاوی پایدارکننده HNO_3) به‌دست آمد. به‌عبارت دیگر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول تمایل بیش‌تری به اتصال با DNA نسبت‌به 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 به‌دست 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 ($-۳۱/۷$ kJ mol^{-1}) نسبت‌به دو نانوذره دی اکسید تیتانیوم دیگر بیش‌تر است که دلیل‌بر 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 به‌ترتیب مربوط‌به 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 دربرگیرنده ذرات کلوئید و اولین لایه غیرمتحرک از حلال اطراف ذرات کلوئید است. پتانسیل زتا،

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.8.5]

مقدار دافعه بین ذره مجاور را نشان می‌دهد. میزان پتانسیل زتا اندازه‌گیری شده در DNA برابر با ۲۹/۹۸ mV- به‌دست آمد که با عدد گزارش شده در مطالعه‌های پیشین تطابق دارد (۱۷). تغییر پتانسیل زتا در حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم می‌تواند دلیل‌بر ایجاد برهم‌کنش از نوع الکترواستاتیک بین نانوذرات و DNA باشد. گزارش شده است که بارهای منفی DNA می‌تواند با بارهای مثبت دی اکسید تیتانیوم برهم‌کنش 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 به‌دست آمده از مطالعه‌های جذب امواج ماوراء بنفش 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 DNA در حضور نانوذرات دی اکسید تیتانیوم حل شده در ماتریکس پراکنده اتیلن گلیکول از ۲۹/۹۸ mV- به ۲۴/۶۰ mV- می‌تواند به‌علت 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 می‌نماید. از آنجا که یکی از اهداف استفاده از نانوذرات در داروسازی و پزشکی درمان سرطان و هدف قرار دادن مولکول DNA است، توجه‌به نوع و پوشش نانوذره انتخاب شده بسیار مهم است.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش برهم‌کنش 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 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 می‌یابد اما راست‌گردی 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 نسبت‌به 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 توجه‌به یافته‌های 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 ضعیف‌تر 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 ماکرومولکول‌های حیاتی است و توجه‌به 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 زکریای رازی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات در پیشبرد این پژوهش تشکر می‌گردد.

تعارض در منافع

نویسندگان هیچگونه تعارض منافعی را اعلام نکرده‌اند.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.8.5]

منابع

1- Hekmat A, Saboury AA, Divsalar A, Seyedarabi A. Structural effects of TiO_2 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. TiO_2 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-TiO_2 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.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.8.5]

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 (ethyle ne 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 TiO_2 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 $TiCl_2$ (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, Renčiuk 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.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.8.5]

31- Magrez A, Horváth L, Smajda R, et al. Cellular toxicity of TiO_2-based nanofilaments. Acs Nano, 2009; 3:2274-2280.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.8.5]