لیزر در پزشکی؛ ۱۳۹۶، دورهٔ ۱۴، شمارهٔ ۳، صفحات: ۲۹-۲۳ .

مقاله پژوهشی

# بررسی میان‌کنش نانومیلهٔ طلا با آنزیم کندرواتیناز با رویکرد طراحی سامانهٔ هدفمند انتقال دارو برای ترمیم ضایعات نخاعی

**مینا سادات نادری** [۱]
**طاهره توحیدی مقدم** [۲]
**خسرو خواجه** [۳]
**بیژن رنجبر** [۴]

۱. *گروه پژوهشی ترمیم نوری، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران، دانشجوی دکتری بیوفیزیک، گروه بیوفیزیک، دانشکدهٔ علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران*

۲. *استادیار، گروه نانوبیوتکنولوژی، دانشکدهٔ علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران*

۳. *استاد، گروه بیوشیمی، دانشکدهٔ علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران*

۴. *استاد گروه بیوفیزیک، گروه بیوفیزیک، دانشکدهٔ علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران*

نویسندهٔ مسئول: بیژن رنجبر تلفن: ۰۲۱۸۲۸۸۳۴۱۸
پست الکترونیک: ranjbarb@modares.ac.ir

**خلاصه**

**هدف:** مطالعهٔ میان‌کنش نانومیله طلا با غلظت‌های گوناگون آنزیم کندرواتیناز به‌منظور بهینه‌کردن نانومیله طلا با رویکرد سامانهٔ هدفمند حامل دارویی برای بهبود روند بازسازی اکسون‌ها و ترمیم ضایعات نخاعی.

**روش بررسی:** نانومیله طلا با روش رشد دانه سنتز شد و مطالعات ساختاری و مورفولوژی نانومیله طلا و بررسی رزونانس پلاسمون سطحی با استفاده از دستگاه طیف‌سنجی و میکروسکوپ الکترونی مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات پلاسمونیک رزونانس سطحی نانومیله طلا در اثر میان‌کنش با غظت‌های مختلف آنزیم توسط تکنیک‌های طیف‌سنجی، فلورسانس و دورنگ‌نمایی دورانی بررسی شد. همچنین فعالیت آنزیمی درحضور غلظت‌های مختلف نانومیله طلا، برای طراحی سامانهٔ هدفمند انتقال دارو انجام شد.

**یافته‌ها:** تغییرات پلاسمونیک نانومیله طلا برای بهبود در نقش حامل دارویی نشان داد که اضافه کردن آنزیم و میان‌کنش آنزیم با نانومیله طلا نه‌تنها منجر به ازدست‌رفتن ساختار نانومیله طلا نمی‌شود بلکه مطالعات فلورسانس نشان‌داد که می‌تواند سبب تقویت شدت سیگنال فلورسانس نیز شود. از طرف دیگر مطالعات فعالیت آنزیم در حضور غلظت‌های مختلف نانومیله طلا، نشان داد که دو غلظت ۱۲/۵ و ۲۵ نانو مولار نانومیله طلا بهترین نتیجه را در زمینهٔ فعالیت آنزیم و حفظ ساختار نانومیله طلا دارد.

**بحث و نتیجه‌گیری:** از کاربردهای نانومیله طلا استفاده از آن در عرصه‌های پزشکی و درمانی به عنوان سامانه انتقال دارو است و یکی از آنزیم‌های کلیدی که برای درمان ضایعات نخاعی استفاده می شود، آنزیم کندرواتیناز است. مطالعات نانومیله طلا درحضور غلظت‌های مختلف آنزیم نشان داد که علاوه بر عدم از بین رفتن ساختار، افزایش سیگنال فلورسانس برای کاربردهای حسگری نیز مشاهده شد. همچنین با توجه به مطالعات فعالیت آنزیم، غلظت ۱۲/۵ نانومولار نانومیله طلا برای طراحی سامانهٔ هدفمند انتقال دارو برای این آنزیم مفید به نظر می‌رسد.

**واژه‌های کلیدی:** نانومیله طلا، آنزیم کندرواتیناز، سامانه انتقال دارو



[ Downloaded from icml.ir on 2025-06-08 ]

## مقدمه

حوزهٔ نانوتکنولوژی در زمینهٔ انتقال دارو و درمان‌های ضدسرطان در دهه‌های اخیر به موفقیت چشمگیری دست یافته است. نانوساختار طلا نسبت به سایر نانوساختارها کاربرد بیشتری پیدا کرده است و این امر می‌تواند به‌علت خاصیت پلاسمونیک قوی‌تر و همچنین قابلیت سازگاری زیستی بالای آن‌ها باشد[۱]. از ویژگی‌های منحصربه‌فرد نانوذرات طلا جذب و پراکندگی قوی در ناحیه مرئی- فرابنفش از طیف الکترومغناطیسی است، به‌طوری‌که در طول‌موج ۷۰۰ تا ۱۲۰۰ نانومتر می‌تواند جذب داشته باشد و این به‌دلیل خاصیت پلاسمونیک قوی نانوذرات طلا است[۲]. از دیگر ویژگی‌های منحصربه‌فرد نانومیله‌های طلا حساسیت نسبت به تغییرات ثابت دی الکتریک مواد اطراف نانوذره است به‌طوری‌که از نانوذرات می‌توان برای سنسور ها و حسگرهای شیمیایی در محیط آزمایشگاهی استفاده کرد[۳]. اندازه و شکل ذرات با توجه به پروتکل‌های سنتزی متفاوت خواهد بود به طوری‌که اندازهٔ آن‌ها می‌تواند بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر تغییرکند. سطح زیاد این نانوذرات از ویژگی‌های دیگر می‌باشد که برای بارگذاری داروها مفید است بنابراین انحلال‌پذیری، پایداری و همچنین پارامترهای کینتیکی داروها را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد[۲]. باتوجه به این که نانومیله‌های طلا مورفولوژی آنیزوتروپیک و غیریکنواخت دارند، برای کاربردهای زیست پزشکی و کاربردهای زیست‌حسگری مفید هستند[۴].

کندروایتین سولفات گلایکان‌ها، کلاس اصلی از مهار کننده‌های رشد آکسون‌ها هستند که مقدار آن هنگام جراحات ستون فقرات و نخاع افزایش می‌یابد و تأثیر منفی در بهبودی و بازیابی آکسون ها خواهند داشت. آنزیم کندرواتیناز اثر مهاری گلیکوزآمینو گلیکان ها را با هضم آن‌ها از بین می‌برد و به این ترتیب سبب ترمیم و بهبودی جراحات نخاعی می‌شود[۵]. درواقع آنزیم کندرواتیناز، زنجیره‌های گلیکوزآمینو گلیکان را در پروتوگلیکان‌ها هضم می‌کند و بدین‌ترتیب بازیابی آکسون و بهبودی عملکردی را افزایش می دهد[۶]. با وجود اهمیت فراوان این آنزیم، عدم پایداری از جمله محدودیت‌های آن در کاربردهای پزشکی است. بنابراین، پایدارسازی این آنزیم به‌شدت مورد توجه محققان قرار گرفته است[۷]. درزمینهٔ میان کنش نانومیله طلا با پروتئین‌ها مطالعاتی صورت گرفته است. ازجمله این مطالعات، بررسی میان‌کنش آنزیم لیزوزیم با نانومیله طلا است که براساس آن پایداری سینتیکی آنزیم افزایش می‌یابد[۸]. البته میان کنش و جذب سطحی ممکن است باعث برخی تغییرات کنفورماسیونی نامطلوب در ساختار بیومولکول‌ها شود که به تغییر در فعالیت منجر می‌گردد. بررسی ساختاری و عملکردی آنزیم لیزوزیم در طی اتصال با نانوساختار اکسید روی نشان می‌دهد که آنزیم در طی اتصال با نانوساختار اکسید روی دستخوش تغییرات اندکی در کنفورماسیون می‌شود درحالی که فعالیت آنزیم تغییر چندانی نمی‌کند[۹]. پاسخ پروتئین بستگی به طبیعت پروتئین و سطح شیمیایی نانوساختار دارد. از تحقیقات دیگر انجام‌شده درزمینهٔ میان‌کنش با نانومیله طلا، پروتئین آلبومین است که نتایج حاصل نشان دهندهٔ تغییرات نامحسوس در کنفورماسیون آنزیم است[۱۰].

مطالعه میان‌کنش آنزیم کندرواتیناز با نانومیله‌های طلا می‌تواند راه کار جدیدی برای انتقال این آنزیم باشد، به‌طوری‌که درحضور کمپلکس آنزیم- نانومیله‌های طلا (نسبت به استفاده از آنزیم به تنهایی) غلظت کمتری از آنزیم جهت درمان نیاز خواهد بود و بنابراین این سامانه (درصورت تحقیقات بیشتر در سطح حیوانی و انسانی) می‌تواند مراجعهٔ بیمار را برای دریافت آنزیم کاهش دهد[۳]. در این مطالعه تغییرات ساختاری و نوسانات پلاسمون سطحی نانومیله‌های طلا دراثر میان‌کنش با غلظت‌های مختلف آنزیم جهت بهینه‌سازی سامانهٔ انتقال دارو در ترمیم ضایعات نخاعی در جهت بازسازی رشد آکسون‌ها بررسی شد.

## روش کار

### ۱. ساخت نانومیلهٔ طلا

نانومیله‌های طلا با روش تکنیک رشد روی ذرات دانه[۱] طی دو مرحله ساخت دانه[۲] و مرحله رشد سنتز[۳] شدند. در مرحلهٔ اول ۲۵۰ میکرولیتر نمک طلا $HAuCL_4$ با غلظت ۰/۰۱ مولار را به ۷/۵ میلی‌لیتر از CTAB با غلظت ۰/۰۹۵ مولار اضافه گردید و بلافاصله ۶۰۰ میکرولیتر محلول $HAuCL_4$ سرد (Ice-cold) اضافه شد. پس از گذشت زمان حداقل ۲ ساعت در دمای اتاق، دانه ها تشکیل شدند.

در مرحلهٔ رشد ابتدا ۹/۵ میلی لیتر محلول CTAB (۰/۰۹۵ مولار) تهیه و سپس ۴۰۰ میکرولیتر محلول نمک طلا $HAuCL_4$ با غلظت ۰/۰۱ مولار و ۶۰ میکرولیتر محلول $AgNO_3$ با غلظت ۰/۰۱ به‌آرامی اضافه گردید و درنهایت با افزودن اسید آسکوربیک و ۴۰ میکرولیتر از محلول دانه از مرحلهٔ قبل، در بازهٔ زمانی سه‌ساعت در شرایط آزمایشگاه نانومیله‌های طلا سنتز شدند[۱۱و۱۲].

### ۲. تخلیص نانومیله‌های طلا و پایش نوسانات پلاسمون سطحی با استفاده از دستگاه طیف‌سنجی مرئی فرابنفش

برای تخلیص نانومیله‌های طلا دوبار سانتریفیوژ و به مدت ۵ دقیقه و با g×۱۲۵۰۰ انجام شد. پس از هر بار سانتریفیوژ، محلول رویی خارج گردید و نانوذرات ته‌نشین‌شده با آب دیونیزه به غلظت موردنظر رسانده شد. پس از سونیکاسیون به مدت ۱ دقیقه، جهت تأیید ساخت نانوذرات طلا با مرفولوژی میله‌ای از طیف‌سنجی فرابنفش- مرئی در گسترهٔ طول موج ۴۰۰ تا ۹۰۰ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر Carry-۱۰۰ استفاده شد[۱۳].

۱. Seed mediated growth protocol
۲. Seed
۳. Growth

[ Downloaded from icml.ir on 2025-06-08 ]

### ۳. تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی عبوری نانومیلهٔ طلا

برای تأیید نهایـی مورفولوژی و همچنین ارزیابی اندازهٔ دقیق، نانوذرات روی شـبکهٔ مسـی (گرید) پوشـیده از کربن قرار گرفتند و بعد از خشک شـدن در شرایط محیط با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری مدل LEO ۹۰۶ آلمان (دانشگاه خواجه نصیر) تصویربرداری انجام شد.

### ۴. میان‌کنش آنزیم- نانومیلهٔ طلا

بـرای بررسـی میان‌کنش آنزیـم- نانومیلـه طلا، نسـبت ۱:۱ از آنزیم (غلظـت ۱۰-۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتـر) و نانومیله طلا (غلظت ۱۲/۵ نانومولار) در دمای ۴ درجه سـانتی‌گراد و به‌مدت ۲ سـاعت انکوبه شـد. بـرای تأیید و بررسـی میان‌کنش آنزیم-نانومیله طـلا از تکنیک‌های زیر استفاده شد:

#### ۴-۱. پتانسیل زتا

برای بررسی تفاوت بار بین نانومیله طلا و نانومیله طلا- آنزیم (۱۰-۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) از پتانسـیل زتا اسـتفاده گردید. به‌این‌ترتیب که پـس از تخلیص نانومیله طـلا، تفاوت بار آنزیم- نانومیلـه طلا و نانومیله طلا به تنهایی (به‌عنوان کنترل) با دستگاه MALVERN Nano-ZS اندازه‌گیری شد.

#### ۴-۲. مطالعات فلورسانس

تغییرات شـدت فلورسانس آنزیم- نانومیله طلا و نانومیله طلا به‌تنهایی (به‌عنـوان کنترل) بـا دسـتگاه Perkin Elmer LS۵۵ (آمریکا) و در محدودهٔ طول‌موج ۴۰۰ تا ۹۰۰ نانومتر انجام گردید.

#### ۴-۳. سنجش فعالیت آنزیم

فعالیت آنزیـم کندرواتیناز درحضور و عدم حضور نانومیله طلا توسـط دستگاه اسپکتروفوتومتر Carry-۱۰۰ بر اساس افزایش جذب در طول‌موج ۲۳۲ nm و با درنظرگرفتن ضریب جذب مولی (ε) $3800\ M^{-1}\ cm^{-1}$، اندازه‌گیری شد. طبق تعریف، واحد فعالیت آنزیمی مقداری از آنزیم است که بتواند در طی یک دقیقه، یک میکرو مول محصول را در حجم واکنش تولید کند[۶و۱۶].

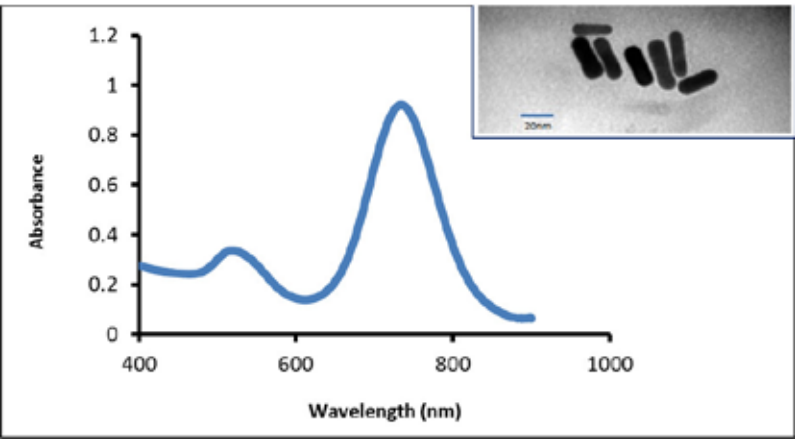
#### ۴-۴. مطالعـات دورنگ نمایـی دورانـی Circular (CD) Dichroism

طیف دورنگ‌نمایی دورانی نانومیله‌های طلا درحضور و عدم‌حضور آنزیم و در بافر فسـفات ۵۰ mM با pH ۶/۸ و در محدودهٔ ۲۵۰-۲۰۰ نانومتر ثبت گردید. تجزیه‌وتحلیل کمی طیف‌ها توسـط نرم‌افزار J-715 شرکت جاسکو ژاپن انجام شد.

## یافته‌ها

### ۱. بررسی ساخت نانومیلهٔ طلا و نوسانات پلاسمون سطحی آن

سـاده‌ترین راه برای تأیید ساخت نانومیله‌های طلا، بررسی طیف جذبی آن‌ها با استفاده از دستگاه طیف‌سنجی مرئی- فرابنفش است. نانومیله‌های طلا در اثر میان‌کنش با پرتوهای الکترومغناطیس به‌علت داشتن دو سطح متفاوت طولی و عرضی به‌صورت‌های مختلفی نوسان می‌کنند. همان‌گونه که در شـکل ۱ دیده می‌شـود دو پیک جذبی مشـاهده می‌شود که پیک اول در طول‌موج ۵۳۰ نانو متر مربوط به سـطح عرضی آن و پیک جذبی دوم در طول‌موج ۷۵۰ نانو متر مربوط به سـطح طولی نانوسـاختار است که بیانگر سـنتز نانوذرات به شکل میله‌ای می‌باشد. همچنین تأیید نهایی مورفولوژی نانومیله طلا با اسـتفاده از میکروسـکوپ الکترونی انجام شد. نتایج نشان می‌دهد که اندازهٔ طولی آن ۲±۳۰ نانومتر و اندازهٔ عرضی آن ۲±۸ نانومتر است (شکل ۱).

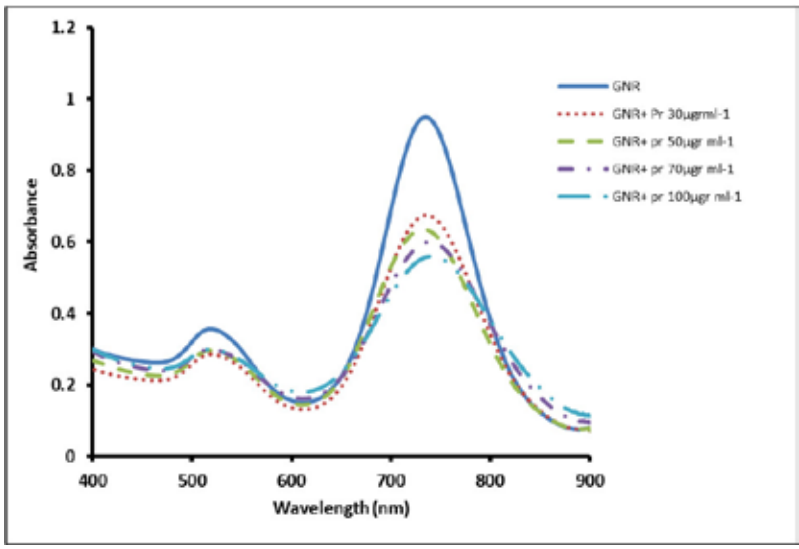



**شکل۱: طیف جذبی نانومیلهٔ طلا علیه طول‌موج در بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار، pH=۶/۸ و تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نانومیلهٔ سنتزشده**

شـکل ۲ نوسانات پلاسـمون سـطحی نانومیله طلا را در حضور و عدم حضور غلظت‌های متفاوت آنزیم نشان می‌دهد. همان‌طورکه مشاهده می شـود، کاهش طیف نانومیله طلا در اثـر میان‌کنش با غلظت‌های مختلف پروتئین رخ داده است به گونه‌ای که با افزایش غلظت پروتئین میزان شدت نوسانات پلاسمونیک سطحی نانومیله طلا نیز کاهش می‌یابد[۱۷و۱۸].

برای بررسی تفاوت بار نانومیله طلا در اثر میان‌کنش با آنزیم کندرواتیناز پتانسیل زتا مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت. بعد از سنتز نانومیله طلا و تخلیص آن، پتانسـیل زتای بدست‌آمده برای نانومیله طلا ۴۰+ میلی‌ولت بـود و با اضافه‌کـردن آنزیم، این مقدار بـه ۱۶/۵+ میلی‌ولت کاهش پیدا کرد. شکل ۳ نشان‌دهندهٔ پتانسیل زتا و تفاوت بار نانومیله طلا دراثر میان کنـش با غلظت‌های مختلف آنزیم اسـت. هرچه غلظت آنزیم افزایش می یابد پتانسـیل زتا نانومیله طلا نیز کاهش می‌یابد. این کاهش بار با نتایج

[ Downloaded from icml.ir on 2025-06-08 ]



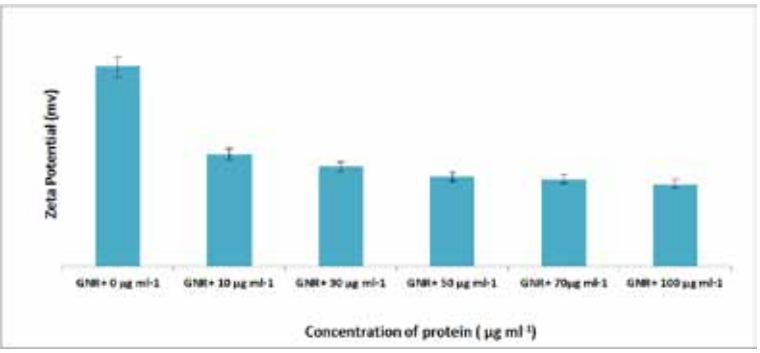

**شکل۲: طیف جذبی نانومیلهٔ طلا در حضور و عدم حضور آنزیم در غلظت‌های مختلف (۱۰۰-۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار، pH=۶/۸**

حاصل‌از طیف‌سنجی قابل‌توجیه بوده به‌طوری‌که با افزایش غلظت آنزیم کاهش در مقدار نوسانات پلاسمون سطحی نانومیله طلا مشاهده شد.

## ۲. مطالعات فلورسانس نانومیلهٔ طلا در حضور آنزیم کندرواتیناز

به‌منظور بررسی ارزیابی نانومیله طلا پس‌از میان‌کنش آن‌ها با پروتئین، طیف پلاسمونیک فلورسانس بررسی شد. همان‌گونه که در شکل ۴ مشاهده می‌شود نانومیله‌های طلا دارای دو باند نشری فلورسانس هستند که مربوط به پلاسمون رزونانس سطحی طولی و عرضی نانومیله‌های طلا می‌باشند[۱۹]. نسبت اندازهٔ طولی به عرضی نانومیله‌های طلا در نشر فلورسانس تأثیرگذار است به‌طوری‌که هرچه این مقدار افزایش یابد به همان نسبت نشر فلورسانس افزایش می‌یابد. به‌نظر می‌رسد تشدید فلورسانس به‌دلیل تشدید میدان محلی[۴] است که تابعی از سطح طولی پلاسمون سطحی نانومیله‌های طلا می‌باشد به‌طوری‌که اگر نسبت سطح طولی به سطح عرضی برابر ۱ باشد دراین‌صورت پیک نشری یک عدد خواهد بود ولی با اضافه‌شدن این نسبت پیک پلاسمون رزونانس به دو پیک عرضی و طولی شکافته می‌شود. علاوه‌براین پیک طول‌موج بلندتر، کاهش یافته و جابه‌جایی قرمز خواهد داشت درحالی‌که پیک طول‌موج کوتاهتر کمی جابه‌جایی آبی خواهد داشت. شدت و موقعیت طول‌موج نشری بلندتر به‌خاطر شکل آنیزوتروپی آن بسیار حساس است. به‌دلیل اندازهٔ ذره و داشتن دو سطح طولی و عرضی تهییج در دو سطح طولی و عرضی رخ می‌دهد و بنابراین دو پیک نشری متفاوت ایجاد خواهد شد. از طرف دیگر سطوح انرژی شکافته‌شدهٔ نانومیله‌های طلا باعث فراوانی الکترون‌های جابه‌جا شده می‌شود. بنابراین فوتون‌های نشری می‌توانند همزمان فرکانس‌های متفاوتی را داشته باشند (هرچند که تشدید میدان

۴. Local field




**شکل۳: پتانسیل زتا و بار نانومیلهٔ طلا و میان‌کنش نانومیلهٔ طلا با آنزیم در غلظت‌های مختلف در بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار، pH=۶/۸**

محلی با جفت شدگی همراه خواهد بود و میدان‌های ورودی و خروجی می‌توانند باعث تشدید این جفت شدگی با پلاسمونیک رزونانس محلی شوند). ویژگی‌های نوری و الکتریکی نانوذرات طلا توسط شکل، اندازه، ویژگی‌های سطحی و محیط اطراف آن‌ها تعیین می‌شود[۲۰].

شکل ۴ نانومیله‌ها را با دو سیگنال فلورسانس نشان می‌دهد و آنیزوتروپی حاصل از آن‌ها باعث ایجاد دو سیگنال فلورسانس شده که مربوط به رزونانس پلاسمون طولی و عرضی است. حضور پروتئین سبب تغییر در ضریب شکست و دی‌الکتریک سطح نانومیله طلا شده که می‌تواند در شدت فلورسانس تأثیرگذار باشد. همچنین یافته‌ها حاکی از آن است که با افزایش غلظت پروتئین، ضریب شکست نانومیله افزایش یافته و منجر به تقویت ویژگی‌های پلاسمونیک و افزایش سیگنال فلورسانس شده است. در نتیجه این ویژگی‌ها می توانند در کاربرد حسگرهای زیستی نانومیله طلا مفید باشند.

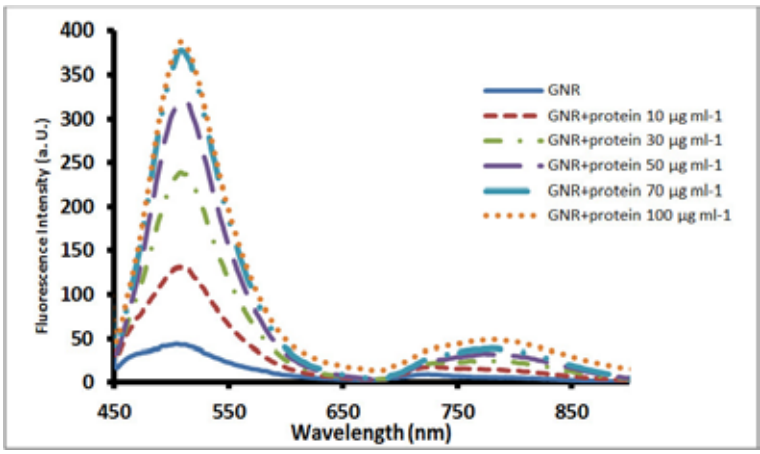
## ۳. مطالعهٔ فعالیت آنزیم کندرواتیناز

فعالیت آنزیم در حضور و عدم‌حضور نانومیله طلا مورد بررسی قرار گرفت و نتایج آن در شکل ۵ ارائه شده است. با افزایش غلظت نانومیله طلا، فعالیت آنزیم نیز کاسته شده و در این بین دو غلظت ۱۲/۵ و ۲۵ نانو مولار نانومیله طلا دارای بیشترین فعالیت در مقایسه با سایرین را دارد. به نظر می‌رسد که درصورت استفاده این سیستم در In-vivo و کاربرد آن در انتقال دارو، غلظت‌های ۱۲/۵ و ۲۵ نانومولار را می‌توان استفاده کرد.

## ۴. مطالعات دورنگ‌نمایی دورانی (CD)

طیف پلاسمونیک دورنگ نمایی دورانی در شرایطی ایجاد می‌شود که موج رزونانس نانوذرات با یکدیگر انباشته شود[۲۱]. بنابراین با یک نانوذره جداگانه که چیدمان منظمی ندارد نمی‌توان در ناحیه مرئی شاهد طیف پلاسمونیک دورنگ نمایی دورانی بود زیرا هر کدام از نانوذرات اثر یکدیگر را خنثی می‌کنند و دلیل دیگر برای مشاهده نکردن پلاسمونیک دورنگ نمایی دورانی، دقت کم دستگاه است. با توجه به مشاهده نشدن پلاسمونیک دورنگ نمایی دورانی درمورد نانومیله طلا می‌توان نتیجه گرفت

[ Downloaded from icml.ir on 2025-06-08 ]



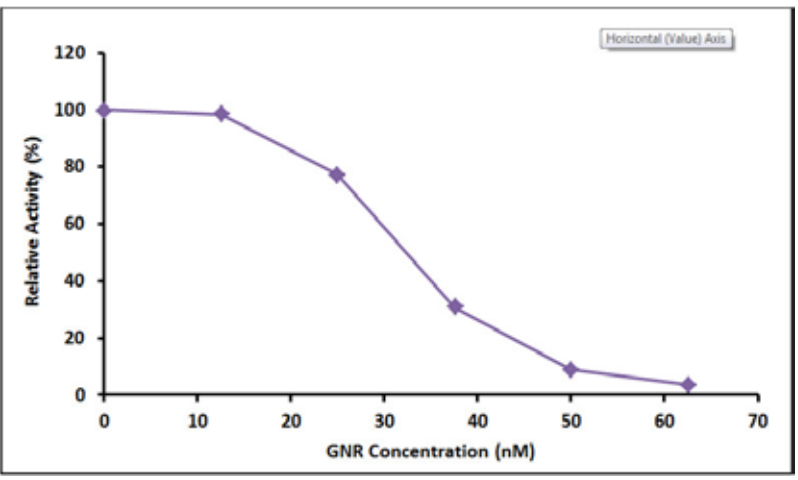

**شـکل۴: تغییرات شدت فلورسـانس حاصل‌از میان‌کنش نانومیلهٔ طلا با غلظت‌های مختلف آنزیم در بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار، pH=۶/۸**

کـه هر کـدام از نانومیله ها به‌صورت جداگانه قرار گرفتند و جفت‌شـدگی و تقویت موج رزونانسی صورت نگرفته است (داده ها نشان داده نشده است).

## بحث و نتیجه‌گیری

اسـتفاده از نانو تکنولوژی در دهه‌های اخیر توجه بسیاری را به خود جلب کـرده که از ایـن بین نانومیله‌های طـلا با ویژگی‌هـای منحصربه‌فرد خود کاربردهای بسـیاری را پیدا کرده است. از کاربردهای آن در عرصهٔ پزشکی و درمانی استفاده از آن به‌عنوان حامل دارویی است. یکی از آنزیم‌هایی که برای درمان ضایعات نخاعی استفاده می‌شود، آنزیم کندرواتیناز است که استفاده از آن برای چندین بار برای بیماران لازم و ضروری است. لذا استفاده از نانوذرات به‌عنوان بسـتری برای انتقال آسـان آنزیم، مفید و سودمند می‌باشد. در این مقاله مطالعه سـاختاری و تغییرات پلاسمونیک رزونانس نانومیله طلا دراثر میان‌کنش با آنزیم توسط تکنیک‌های طیف‌سنجی، فلورسانس، دورنگ نمایی دورانـی و همچنین مطالعه فعالیت آنزیم میان‌کنش یافته با نانومیله طلا در غلظت‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

اتصال نانومیله طلا به آنزیم کندرواتیناز باعث تغییر در شدت جذب باند پلاسـمون رزونانسی نانومیله طلا می‌شـود. به‌طوری‌که سطح با بار مثبت نانومیله طلا با بار منفی سطح پروتئین میان‌کنش داده و باعث کاهش بار مثبت نانومیله طلا خواهد شد[۱۷و۱۸]. بنابراین می‌توان از نانومیله طلا به عنوان نانوحامل دارویی، در غلظتی از آنزیم که ساختار نانومیله دستخوش تغییر زیادی نشـده باشـد اسـتفاده نمود. پلاسـمون رزونانس می‌تواند منجر به القای تشـدید میدان الکترومغناطیسـی شود و ویژگی‌های نوری کروموفورهای اطراف را تحت‌تأثیر قرار دهد. قابل توجه است که نانوذرات به‌تنهایی و در عدم حضور آنزیم ، فلورسـانس ذاتی کمی دارند ولی دراثر میان‌کنش با پروتئین، افزایش فلورسـانس مشاهده می‌شود به‌طوری‌که با افزایش غلظت آنزیم مقدار نشر فلورسانس نیز افزایش می‌یابد[۲۲]. یکی




**شکل۵: فعالیت آنزیم کندرواتیناز درحضور غلظت‌های مختلف نانومیلهٔ طلا در بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار، pH=۶/۸**

دیگر از ویژگی‌های منحصربه‌فرد نانوذرات توانایی آن‌ها در بیوسنسورهای نوری است به‌طوری‌که نانومیله‌های طلا می‌توانند به پروتئین‌های نشاندار متصـل شـده و برای شناسـایی اهـداف بیولوژیکی با تشـدید و افزایش حساسـیت اسـتفاده گردند. برای بهینه‌کردن فعالیت آنزیم از غلظت‌های مختلـف نانومیلـه طلا برای میان‌کنش اسـتفاده گردید کـه از این بین، غلظت ۱۲/۵ نانومولار بیشـترین فعالیت را در مقایسـه با سایر آنزیم‌های میان‌کنش‌یافته نشان می‌داد.

کلاس‌هـای مختلفی از نانـوذرات به‌عنوان حامل‌های دارویی شـناخته شده است که شامل لیپوزوم‌ها، میسل‌ها، وزیکل‌ها، دندریمرها و نانوذرات فلزی اسـت. از این میان نانومیله طلا به‌عنوان سـامانهٔ انتقالی برای حمل و رهایش بیومولکول‌ها و داروهای مختلف در سـلول‌های مختلف توسـعه پیدا کرده اسـت که می‌توانـد به‌دلیل ویژگی‌هایـی از قبیل خنثی بودن هسـته فلزی طلا و سازگاری زیستی آن اشـاره کرد. از ویژگی‌های دیگر می‌توان به اندازهٔ قابل‌کنترل آن اشـاره کرد که سـطح مناسـبی را برای بارگذاری دارو فراهم می‌کند. نانومیله‌های طلا می‌توانند اثرات نور گرمایی را پشـتیبانی کنند. پراکنده‌شدن انرژی نوری جذب‌شده به‌عنوان حرارت می‌تواند برای رهایش فعال داروها به‌کار گرفته شـود. کنترل رهایش دارو از سطح نانوذرات برای نگه‌داری غلظت دارویی در بحث‌های درمان بسیار ضروری است و باید محل رهایش کنترل شده باشد. محرک‌های مختلفی از قبیل: تغییرات در pH، گلوتاتیون، آنزیم و نور برای رهایش دارو وجود دارد، از آنجایی که نانومیله طلا در طول‌موج‌های مختلف، جذب مشخص و معینـی دارد بنابراین تابش نور در یک طول‌موج خاص به ترکیب نمونه باعث رهایش داروی متصل شده می‌شود ] ۲۳[.

مطالعه‌ای مبنی بر اسـتفاده از داربست‌های هیدروژلی میکروتوبول‌های لیپیـدی بـرای انتقال و تحویل دارو توسـط Lee در سـال ۲۰۰۹ انجام گردید، نتایج حاکی از رهایش آرام دارو توسط داربست بود، .به‌عبارت‌دیگر

[ Downloaded from icml.ir on 2025-06-08 ]

داربست استفاده‌شده باعث بهبود در فعالیت آنزیمی شده و رهایش آن به جای یک ساعت، دو هفته به‌طول می‌انجامد و به‌این‌صورت باعث ترمیم در جراحات ستون فقرات می‌شود[۲۴].

مطالعه رهایش کنترل‌شده از دوکسوروبیسین که توسط نانومیله‌های طلا میانجی‌گری می‌شود درسال ۲۰۱۳ توسط Pandey انجام گردید. در این روش از سوزن‌های طلا برای انتقال داروی هوشمند و کارا برای استفاده گسترده از داروهای ضدسرطانی استفاده شد[۲۵]. انتقال و رهایش برنامه‌ریزی‌شده مواد دارویی با هدف فیزیولوژیک خاص یک چالش مهم برای درمان‌های مولکولی به‌شمار می‌آید که در این بین نانوذرات طلا با توجه به موارد ذکر شده، می‌تواند به‌عنوان هم برای سیستم انتقال مؤثر و کارا وهم برای رهایش مواد دارویی به سلول‌های مختلف استفاده شود.

در این مطالعه به بررسی تغییرات ساختاری نانومیله طلا و تغییرات فعالیت آنزیم میان‌کنش‌یافته با نانومیله طلا پرداخته شد و نتایج نشان داد که حضور پروتئین نه‌تنها منجر به ازدست‌دادن ساختار نانومیله طلا به‌عنوان حامل دارویی نمی‌شود بلکه در افزایش سیگنال نیز مؤثر است. از نتایج دیگر بدست‌آمده در زمینهٔ کاربردهای حامل دارویی نانومیله طلا این است که غلظت ۱۲/۵ نانومولار نانومیله طلا بهترین فعالیت را برای آنزیم دارا بود. بنابراین، این مطالعه می‌تواند چشم‌اندازی در جهت ترمیم بهتر ضایعات نخاعی با توجه به عمکرد آنزیم و نقش نانوحاملی نانومیله طلا باشد که البته نیاز به تحقیقات بیشتر در سطح حیوانی و انسانی دارد.

## References:

1. Alkilany AM, Thompson LB, Boulos SP, Sisco PN, Murphy CJ. Gold nanorods: their potential for photothermal therapeutics and drug delivery, tempered by the complexity of their biological interactions. Advanced drug delivery reviews. 2012; 64(2): 190-9.

2. Vigderman L, Khanal BP, Zubarev ER. Functional gold nanorods: synthesis, self-assembly, and sensing applications. Advanced Materials. 2012; 24(36): 4811-41.

3. Chen PC, Mwakwari SC, Oyelere AK. Gold nanoparticles: from nanomedicine to nanosensing. Nanotechnology, science and applications. 2008; 1: 45.

4. Huang X, Neretina S, El-Sayed MA. Gold nanorods: from synthesis and properties to biological and biomedical applications. Advanced Materials. 2009; 21(48): 4880-910.

5. Prabhakar V, Capila I, Carlos J, Pojasek K, Sasisekharan R. Chondroitinase ABC I from Proteus vulgaris: cloning, recombinant expression and active site identification. Biochemical Journal. 2005; 386(1): 103-12.

6. Yamagata T, Saito H, Habuchi O, Suzuki S. Purification and properties of bacterial chondroitinases and chondrosulfatases. Journal of Biological Chemistry. 1968; 243(7): 1523-35.

7. Nazari-Robati M, Khajeh K, Aminian M, Fathi-Roudsari M, Golestani A. Co-solvent mediated thermal stabilization of chondroitinase ABC I form Proteus vulgaris. International journal of biological macromolecules. 2012; 50(3): 487-92.

8. Moghadam TT, Ranjbar B, Khajeh K. Conformation and activity of lysozyme on binding to two types of gold nanorods: A comparative study. International journal of biological macromolecules. 2012; 51(1): 91-6.

9. Chatterjee T, Chakraborti S, Joshi P, Singh SP, Gupta V, Chakrabarti P. The effect of zinc oxide nanoparticles on the structure of the periplasmic domain of the Vibrio cholerae ToxR protein. The FEBS journal. 2010; 277(20): 4184-94.

10. Chakraborty S, Joshi P, Shanker V, Ansari ZA, Singh SP, Chakrabarti P. Contrasting effect of gold nanoparticles and nanorods with different surface modifications on the

[ Downloaded from icml.ir on 2025-06-08 ]

structure and activity of bovine serum albumin. Langmuir. 2011; 27(12): 7722-31.

11. Moghadam TT, Ranjbar B, Khajeh K, Etezad SM, Khalifeh K, Ganjalikhany MR. Interaction of lysozyme with gold nanorods: conformation and activity investigations. International journal of biological macromolecules. 2011; 49(4): 629-36.

12. Sau TK, Murphy CJ. Seeded high yield synthesis of short Au nanorods in aqueous solution. Langmuir. 2004; 20(15): 6414-20.

13. Nikoobakht B, El-Sayed MA. Preparation and growth mechanism of gold nanorods (NRs) using seed-mediated growth method. Chem. Mater. 2003; 15(10): 1957-62.

14. Protasevich I, Ranjbar B, Lobachov V, Makarov A, Gilli R, Briand C, Lafitte D, Haiech J. Conformation and thermal denaturation of apocalmodulin: role of electrostatic mutations. Biochemistry. 1997; 36(8): 2017-24.

15. Ranjbar B, Gill P. Circular Dichroism Techniques: Biomolecular and Nanostructural Analyses-A Review. Chemical biology & drug design. 2009; 74(2): 101-20.

16. Nazari-Robati M, Khajeh K, Aminian M, Mollania N, Golestani A. Enhancement of thermal stability of chondroitinase ABC i by site-directed mutagenesis: an insight from Ramachandran plot. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics. 2013; 1834(2): 479-86.

17. Gole A, Murphy CJ. Seed-mediated synthesis of gold nanorods: role of the size and nature of the seed. Chemistry of Materials. 2004; 16(19): 3633-40.

18. Gole A, Murphy CJ. Seed-mediated synthesis of gold nanorods: role of the size and nature of the seed. Chemistry of Materials. 2004; 16(19): 3633-40.

19. John HT. Fluorescence properties of gold nanorods and their application for DNA biosensing. Chemical communications. 2005; 31:3924-6.

20. Jian Z, Yong-Chang W, Shi-Nong Y. Fluorescence spectrum characteristics of gold nanorods. Chinese Physics Letters. 2004; 21(3): 559.

21. Eustis S, El-Sayed M. Aspect ratio dependence of the enhanced fluorescence intensity of gold nanorods: experimental and simulation study. The Journal of Physical Chemistry B. 2005; 109(34): 16350-6.

22. Azizi A, Ranjbar B, Moghadam TT, Bagheri Z, Baglou SR. Surface plasmon resonance coupled circular dichroism of DNA–gold nanorods assembly. Journal of Physics D: Applied Physics. 2014; 47(31): 315401.

[ Downloaded from icml.ir on 2025-06-08 ]