

## مطالعه برهمکنش بین نانو خوشه های طلا با پوشش گلو تاتیون و آلبومین سرم

### گاوی با روش طیف سنجی

زهرا شجاعی فرد\*؛ بهرام همتی نژاد

بخش شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

**چکیده:** برهمکنش نانو خوشه های طلا (GSH-AuNCs) با آلبومین سرم گاوی (BSA) با استفاده از طیف سنجی فلورسانس مورد بررسی قرار گرفت. ثابت های خاموش کننده و پارامترهای اتصال (ثابت اتصال و تعداد محل های اتصال) با روش خاموش کردن فلورسانس تعیین شدند. پارامترهای ترمودینامیکی محاسبه شده ( $\Delta S$  و  $\Delta G$ ،  $\Delta H$ ) تأیید کردند که واکنش اتصال عمدتاً توسط واندروالس و برهمکنش های پیوند هیدروژنی هدایت می شود. طراحی آزمایش رقابتی با نشانگر های استاندارد نشان می دهد که این نانو خوشه ها می توانند به سایت I آلبومین متصل شوند.

**واژگان کلیدی:** نانو خوشه طلا، طیف سنجی فلورسانس، پروتئین سرم آلبومین گاوی.

Shojaeifard.z@gmail.com

در مورد تعامل آنها با زیست مولکول ها هنوز محدود می باشد [۱۲] و [۱۳]. به منظور سنتز و توسعه AuNCs کاربردی و ایمن، از آلبومین سرم (SA) که در میان درشت مولکول های زیستی یکی از پروتئین های محلول اصلی سیستم گردش خون است، می توان استفاده کرد. این پروتئین نقش بسیار مهمی در انتقال انواع لیگاندها، متابولیت ها، هورمون ها، داروهای بیهوشی و سایر داروهای رایج در خون را دارد. آلبومین استخراج شده از سرم گاوی (BSA)، به دلیل تشابه ساختاری که با آلبومین سرم انسانی (HSA) دارد، یکی از پروتئین هایی است که به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است. به عنوان یک پروتئین مدل، BSA دارای دو تربیتوفان به نام های Trp-134 و Trp-212 است که دارای فلورسانس ذاتی می باشند [۱۴ و ۱۵] و معمولاً برای مطالعه برهمکنش های بین نانوذرات و زیست مولکول ها استفاده می شوند [۱۶ و ۱۷]. ساختار کریستالی BSA نشان داده شده است که این پروتئین دارای یک مونومر مارپیچ به شکل قلب است که از سه حوزه همولوگ به نام های I، II و III تشکیل شده است و

### ۱- مقدمه

نانو خوشه های طلا (AuNCs) به دلیل سازگاری مناسب با محیط زیست، پایداری و روش سنتز آسان، بسیار مورد توجه قرار گرفته اند. مطالعات اخیر، سودمندی AuNCs فلورسانس دهنده را در تشخیص بیولوژیکی و تصویربرداری زیستی، مانند تشخیص مولکول های زیستی [۱]، سنجش یون های فلزی درون سلولی [۲ و ۳]، برچسب گذاری سلول های زنده [۴] و تصویربرداری های درون بدن موجود زنده را نشان داده اند [۵]. با وجود مزایای قابل توجه، AuNCs ها ممکن است برهمکنش های خطرناک و نامطلوبی با سیستم های بیولوژیکی داشته باشند که منجر به ایجاد سمیت گردد. بنابراین، بررسی تعاملات بین AuNCs و سیستم های بیولوژیکی، مانند مولکول های زیستی و سلولی حایز اهمیت می باشد. اگرچه پیشرفت زیادی در مورد اثرات AuNCs ها بر روی سلول و در داخل بدن انجام شده است [۶-۱۱]، دانش

هر دامنه شامل دو زیر دامنه به نام های A و B است [۱۸]. نواحی اصلی محل های اتصال لیگاند در SA در حفره های آگریز در زیر دامنه های IIA و IIIA قرار دارند. برخی از پروب ها با مکان های اتصال خاص می توانند به تعیین محل های اتصال دارو در BSA کمک کنند.

در این کار، برهمکنش بین AuNCs با گلوپروتئین (AuNCs-GSH) و BSA با توجه به تأثیر AuNCs بر فلورسانس BSA بررسی شد که نتایج قابل توجهی، در مورد فعل و انفعالات اتصالات به عنوان مثال، مکانیسم خاموشی (فرونشانی طیف)، نیروهای برهمکنش و تغییرات ساختاری BSA بر اساس روش های طیف سنجی ارائه شد.

## ۲-۲-۴- تعامل GSH-AuNCs-BSA در حضور نشانگرهای سایت پروتئین BSA

نشانگرهای شناخته شده سایت I (وارفارین) و سایت II (ایبوپروفن) برای شناسایی محل اتصال GSH-AuNCs در BSA مورد استفاده قرار گرفتند. به این منظور، محلول های مخلوط هم مولار BSA و ترکیبات نشانگر (هر کدام  $10^{-7} \times 4/0$  mM) با GSH-AuNCs (از ۰ تا ۶ میکرومولار) تیترا شدند. غلظت تیرانت (GSH-AuNCs) از ۰/۰ تا  $10^{-6} \times 6/0$  M در هر مورد تغییر کردند. طیف فلورسانس محلول های حاصل در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در همان تنظیمات ابزاری که در بخش قبل ذکر شد، بررسی شد.

## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱- مکانیسم خاموشی فلورسانس

اثر GSH-AuNCs بر شدت فلورسانس BSA در شکل ۱ نمایش داده شده است. هنگامی که مقادیر مختلف محلول GSH-AuNCs به غلظت ثابت BSA اضافه شد، کاهش قابل توجهی در شدت فلورسانس BSA مشاهده شد. همچنین، تأثیر GSH بر BSA نیز مورد ارزیابی قرار گرفته است.

در این کار، برهمکنش بین AuNCs با گلوپروتئین (AuNCs-GSH) و BSA با توجه به تأثیر AuNCs بر فلورسانس BSA بررسی شد که نتایج قابل توجهی، در مورد فعل و انفعالات اتصالات به عنوان مثال، مکانیسم خاموشی (فرونشانی طیف)، نیروهای برهمکنش و تغییرات ساختاری BSA بر اساس روش های طیف سنجی ارائه شد.

## ۲- بخش تجربی

### ۲-۱- ابزار و مواد مورد نیاز

گلوپروتئین کاهش یافته، آلبومین سرم گاوی (BSA) و نمک طلا از شرکت سیگما تهیه شدند. تمام طیف های فلورسانس توسط یک اسپکتروفوتومتر فلورسانس LS50B پرکین-لمر با شکاف های برانگیختگی و انتشار ۱۰ نانومتری مجهز به حمام ترموستات ثابت گردیدند.

### ۲-۲- سنتز GSH-AuNCs

AuNCs طبق روشی که قبلاً توضیح داده شد آماده شدند [۱۹]. به طور خلاصه، ۰/۵۰ میلی لیتر محلول آبی از محلول های آبی ۲۰/۰ میلی مولار  $H AuCl_4$  و ۰/۱۵ میلی لیتر محلول آبی ۱۰۰/۰ میلی مولار GSH با ۴/۵ میلی لیتر آب دوبار تقطیر در دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتیگراد مخلوط شدند. مخلوط واکنش تا دمای  $70 \pm 3$  درجه سانتیگراد تحت هم زدن ملایم در ۵۰۰ دور در دقیقه به مدت حدود ۲۴ ساعت حرارت داده شدند.

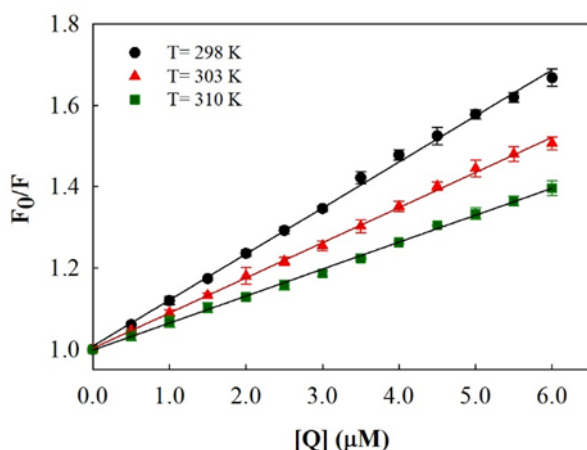
### ۲-۳- تعیین پارامترهای اتصال

محلول اولیه BSA ( $1 \times 10^{-5}$  M) در بافر Tris-HCl ۰/۰۵ مولار، ۰/۱ NaCl مولار و pH  $7.4 \pm 0.1$  تهیه شد. به منظور تعیین پارامترهای اتصال، ۲/۰ میلی لیتر بافر Tris-HCl با pH برابر با

می‌شود [۲۰].

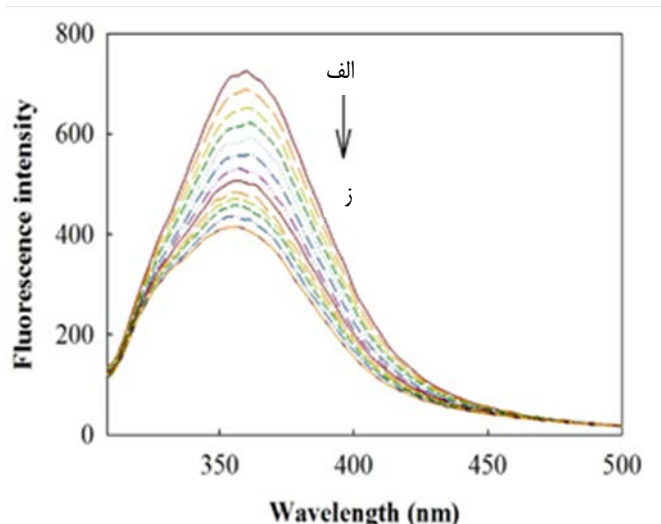
$$F_0/F = 1 + K_{sv} [Q] = 1 + \tau_0 k_q [Q] \quad (1)$$

که در آن  $F_0$  و  $F$  به ترتیب شدت فلورسانس حالت پایدار تصحیح شده در غیاب و حضور خاموش کننده هستند،  $K_{sv}$  ثابت خاموش کننده استرن-والمر،  $[Q]$  غلظت کل خاموش کننده،  $k_q$  ثابت خاموش کننده دو مولکولی، و  $\tau_0$  میانگین طول عمر پروتئین در غیاب خاموش کننده است و مقدار آن  $10^{-8}$  ثانیه می باشد. در این مطالعه، خاموش شدن فلورسانس BSA با معادله استرن-ولمر در سه دما (یعنی ۲۹۸، ۳۰۳ و ۳۱۰ درجه کلون) بررسی شد. بر اساس داده های فلورسانس، نمودارهای  $F_0/F$  در برابر غلظت عامل خاموش کننده  $[Q]$  (نانو خوشه طلا) در شکل ۳ نشان داده شده است.



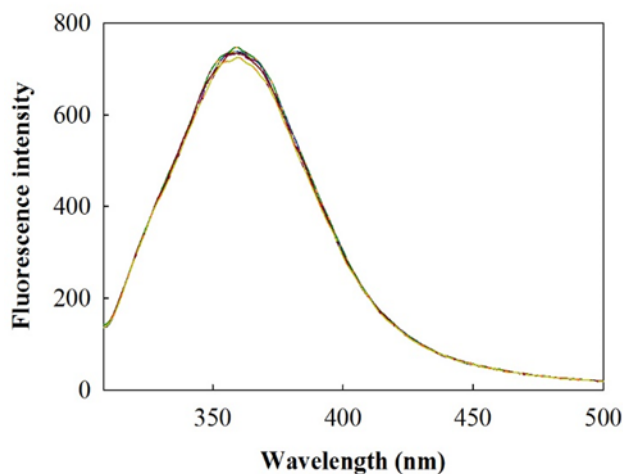
شکل ۳. نمودار استرن-ولمر برای خاموش کردن BSA با GSH-AuNC در محلول بافر در دماهای ۲۹۸، ۳۰۳ و ۳۱۰ درجه کلون  $\lambda_{ex}$  برابر با ۲۷۸ نانومتر.

با توجه به معادله ۱ و شکل ۳، مقدار ثابت های خاموش کننده  $K_{sv}$  و ثابت های سرعت خاموشی  $k_q$  در جدول ۱ آورده شده است. بر اساس جدول ۱، ثابت خاموشی استرن-والمر ( $K_{sv}$ )، با دما همبستگی معکوس دارد. این پدیده، نشان می دهد که خاموش شدن فلورسانس BSA توسط GSH-AuNCs احتمالاً از طریق یک مکانیسم خاموش کننده استاتیک رخ می دهد. علاوه بر این، ثابت های خاموش دو مولکولی به دست آمده ( $k_q$ ) برای این ترکیبات در مرتبه  $1 \times 10^{12} M^{-1} s^{-1}$  است که ۱۰۰ برابر بیشتر از حداکثر مقدار ممکن برای خاموش شدن تحت تاثیر پدیده نفوذ است. این مشاهدات تایید می کنند که خاموش کردن فلورسانس پروتئین توسط GSH-AuNCs یک فرآیند پویا نیست بلکه یک فرآیند ایستا است. در نتیجه، داده های خاموشی استاتیک بر اساس معادله



شکل ۱. تغییرات در طیف فلورسانس BSA از طریق تیتراسیون با GSH-AuNCs در دمای ۲۹۸ درجه کلون. غلظت پروتئین  $1 \times 10^{-3} M$  است و غلظت GSH-AuNCs از الف (صفر مولار) تا ز ( $0.6 \times 10^{-6}$  مولار) متفاوت می باشد.  $pH = 7.4$  (Tris-HCl) و  $0.5$  مولار و  $278 \text{ nm}$   $\lambda_{ex}$  نانومتر.

شکل ۲ نشان می دهد که شدت فلورسانس BSA تحت تأثیر GSH حتی در غلظت های بالا را نمایش می دهد. این نتایج می تواند نشان دهد که فلورسانس BSA به جای GSH توسط AuNCs با GSH مهار شده است.



شکل ۲. طیف فلورسانس BSA در حضور GSH در محلول بافر  $0.5$  مولار Tris-HCl ( $pH = 7.4$ ) و  $\lambda_{ex}$  برابر با ۲۷۸ نانومتر.

خاموش شدن شدت فلورسانس به هر فرآیندی اطلاق می شود که شدت فلورسانس یک نمونه را کاهش دهد. انواع برهمکنش های مولکولی می تواند منجر به خاموش شدن شود، نظیر واکنش های حالت برانگیخته، بازآرایی های مولکولی، انتقال انرژی، تشکیل کمپلکس حالت پایه و خاموش شدن در اثر برخورد. مکانیسم خاموش شدن فلورسانس با معادله استرن-ولمر (معادله ۱) توصیف

لاینینیور برک یا معادلات استرن-والمر اصلاح شده تجزیه و تحلیل شدند (معادله ۲) [۲۰].

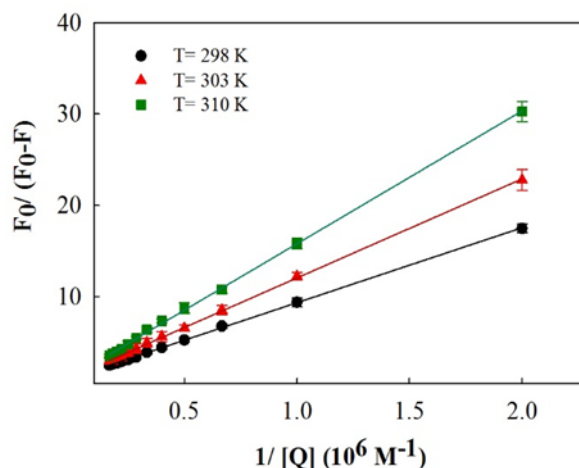
جدول ۱. پارامترهای خاموشی بر همکنش GSH-AuNCs با BSA در دماهای مختلف در pH = ۷/۴

T (K)	$K_{av} (\times 10^4 M^{-1})$	$Kq (\times 10^{12} M^{-1} s^{-1})$	$R^2$
۲۹۸	۱۱/۳	۱۱/۳	۰/۹۹۷
۳۰۳	۸/۶۵	۸/۶۵	۰/۹۹۶
۳۱۰	۶/۶۳	۶/۶۳	۰/۹۹۸

$R^2$  ضرب همبستگی خطی است.

$$\frac{F_0}{(F_0-F)} = \frac{1}{f_a K_a} \frac{1}{[Q]} + \frac{1}{f_a} \quad (2)$$

که در آن  $F_0$  و  $F$  شدت فلورسانس تصحیح شده BSA در غیاب و حضور AuNCs در غلظت  $[Q]$  هستند،  $f_a$  کسر مولی BSA قابل دسترسی با حلال و  $K_a$  ثابت خاموش کردن موثر برای BSA قابل دسترس است. وابستگی  $F_0/(F_0-F)$  به مقدار عکس غلظت خاموش کننده،  $[Q]^{-1}$ ، باید با شیب  $(f_a K_a)^{-1}$  خطی باشد در حالی که مقدار  $f_a^{-1}$  ثابت است. بنابراین، ثابت  $K_a$  ضریبی از مختصات  $f_a^{-1}$  و شیب  $(f_a K_a)^{-1}$  است. همانطور که از شکل ۴ مشاهده می شود، وابستگی  $F_0/(F_0-F)$  به مقدار متقابل غلظت خاموش کننده  $[Q]^{-1}$  در تمام دماهای مورد مطالعه خطی است.



شکل ۴. نمودار استرن-والمر اصلاح شده برای خاموش کردن BSA با GSH-AuNCs در محلول بافر در دماهای ۲۹۸، ۳۰۳ و ۳۱۰ درجه کلوین  $\lambda_{ex}$  برابر با ۲۷۸ نانومتر.

داده های پیوند حاصل در سه دمای مختلف (۲۹۸، ۳۰۳ و ۳۱۰ درجه کلوین) در جدول ۲ نشان داده شده است. همانگونه که در

جدول ۲ نشان داده شده است،  $K_a$  با دما همبستگی معکوس دارد، که نشان می دهد مکانیسم خاموش کردن احتمالی اتصال GSH-AuNCs-BSA با تشکیل کمپلکس (خاموشی استاتیک) آغاز می شود. با توجه به نتایج، لازم به ذکر است که اثر دما بر ثابت اتصال GSH-AuNCs و BAS بسیار متوسط بوده و چندان معنی دار نیست.

جدول ۲. ثابت تشکیل اصلاح شده استرن-والمر و پارامترهای ترمودینامیکی نسبی برهمکنش GSH-AuNCs-BSA در pH = ۷/۴

T (K)	$K_a (\times 10^4 M^{-1})$	$R^2$	$\Delta H^\circ (kJ mol^{-1})$	$\Delta G^\circ (kJ mol^{-1})$	$\Delta S^\circ (J mol^{-1} K^{-1})$
۲۹۸	۱۳/۶	۰/۹۹۷	-۳۰/۴	-۲۹/۲۷	-۳/۹۶
۳۰۳	۱۰/۹	۰/۹۹۵	-۳۰/۴	-۲۹/۲۵	-۳/۹۶
۳۱۰	۸/۴۳	۰/۹۹۸	-۳۰/۴	-۲۹/۲۲	-۳/۹۶

$R^2$  ضرب همبستگی خطی است.

مقدار  $K_a$  در دمای ۲۹۸ درجه کلوین به اندازه  $1.0 \times 10^5 M^{-1}$  می باشد که تقریباً ۴ مرتبه کم تر از ثابت تشکیل برای نانو ذرات طلا می باشد [۲۱]. راندمان خاموشی پایین تر پایین این AuNCs را می توان با وابستگی به اندازه توجه کرد. ذرات فلزی کوچک تر، نشر فلوروفورهای مجاور را با راندمان کمتری خاموش می کنند [۲۲].

### ۳-۲- پارامترهای ترمودینامیکی و حالت اتصال

به طور کلی، مولکول های کوچک از طریق چهار حالت اتصال به درشت مولکول ها، یعنی پیوند هیدروژنی، واندروالس، الکترواستاتیک و برهمکنش های آگریز متصل می شوند. علامت و بزرگی پارامترهای ترمودینامیکی مانند  $\Delta G^0$  (تغییر انرژی آزاد گیبس)،  $\Delta H^0$  (تغییر آنتالپی) و  $\Delta S^0$  (تغییر آنتروپی) واکنش برای مطالعه نیروهای برهمکنش مهم هستند. با در نظر گرفتن ثابت بودن تغییر آنتالپی واکنش در تغییرات دمایی کوچک، پارامترهای ترمودینامیکی طبق معادلات ۳ و ۴ از معادله وانت هوف محاسبه شد:

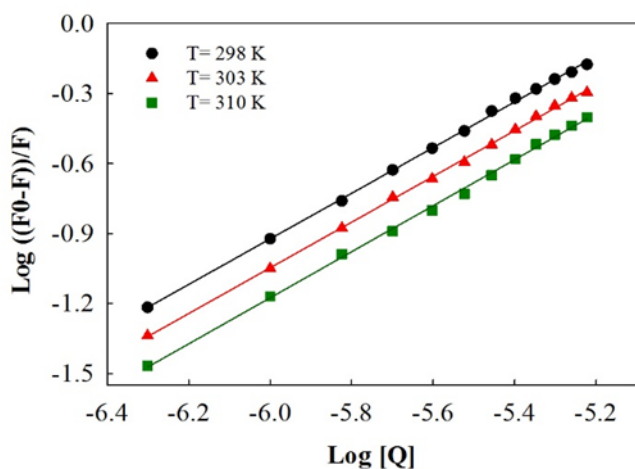
$$\ln K_a = -\frac{\Delta H^0}{RT} + \frac{\Delta S^0}{R} \quad (3)$$

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T\Delta S^0 \quad (4)$$

بیشتر به سطح، قدرت اتصال پروتئین به تدریج کاهش می یابد. برای تعامل غیر مشارکتی  $n = 1$  و اتصال پروتئین مستقل از سایر پروتئین های موجود در سطح است [23]. ثابت پیوند ( $K_b$ ) و تعداد مکان های اتصال ( $n$ ) را می توان بر اساس معادله ۷ تجزیه و تحلیل کرد [24]:

$$\log \frac{F_0 - F}{F} = \log K_b + n \log [Q] \quad (7)$$

که در آن  $K_b$  ثابت پیوند است که منعکس کننده درجه برهمکنش BSA و AuNCs است و  $n$  تعداد محل های اتصال است. با توجه به نتایج تجربی، نمودارهای خطی  $\log ((F_0 - F)/F)$  در مقابل  $\log [Q]$  را می توان مشاهده کرد (شکل ۶).



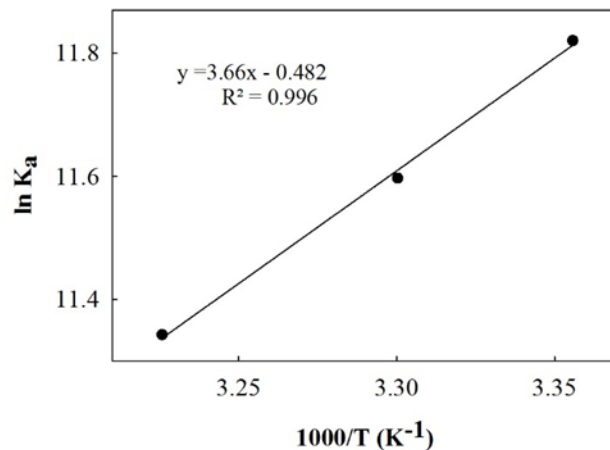
شکل ۶. نمودار لگاریتمی اثر خاموشی GSH-AuNCs بر روی BSA در  $pH = 7.4$  (۰/۰۵ مولار بافر Tris-HCl).

مقادیر متناظر  $K_b$  و  $n$  که به ترتیب از شیب ها و عرض از مبدا های نمودارهای خطی ارزیابی می شوند، در جدول ۳ خلاصه شده اند. همانطور که مشاهده می شود، مقدار  $n$  برای اتصال کمپلکس به پروتئین مورد استفاده تقریباً ۱ است، که نشان می دهد در واکنش های اتصال نسبت مولی پروتئین به دارو ۱:۱ است.

مقادیر تخمینی  $K_b$  در مرتبه  $10^4$  است، که نشان می دهد یک جاذبه نسبتاً قوی بین BSA و GSH-AuNCs وجود دارد. این نتایج همراه با تخمین ثابت های خاموش کننده موثر نشان می دهد که ثابت اتصال بین BSA و GSH-AuNCs متوسط است و از این رو GSH-AuNCs ها می توانند توسط این پروتئین در بدن ذخیره و حمل شوند.

### ۳-۴- مکان اتصال انتخابی GSH-AuNCs به BSA

که در این رابطه  $K_a$  ثابت تشکیل در دمای  $T$ ، و  $R$  ثابت گاز می باشد. مقادیر  $\Delta S_0$  و  $\Delta H_0$  به ترتیب از شیب و عرض از مبدا نمودار  $\log K_a$  در مقابل  $1/T$  ارزیابی شدند. نمودار وانت هوف به دست آمده در شکل ۵ نمایش داده شده است.



شکل ۵. نمودار وانت هوف برای برهمکنش BSA-GSH-AuNCs در  $pH = 7.4$  (۰/۰۵ مولار بافر Tris-HCl).

با توجه به داده های ارائه شده در جدول ۲، مقدار منفی  $\Delta G_0$  نشان دهنده خود بخودی بودن برهمکنش می باشد. مقادیر منفی به دست آمده برای  $\Delta H_0$  و  $\Delta S_0$  نشان می دهد که نیروهای واندروالس و پیوند هیدروژنی می توانند به عنوان پارامترهای اصلی در تشکیل کمپلکس BSA-GSH-AuNCs در نظر گرفته شوند. پپتید GSH که به عنوان تثبیت کننده AuNCs استفاده می شود می تواند به عنوان عاملی برای تشکیل پیوند هیدروژنی نانو خوشه ها با باقی مانده های BSA در نظر گرفته شود.

### ۳-۳- پارامترهای پیوند

در برهمکنش پروتئین-نانوذره، زیست مولکول ها می توانند برهمکنش های متعددی با سطح نانوذره داشته باشند، در نتیجه منجر به اتصالات چندگانه می شوند. این پدیده پیچیده را می توان با استفاده از معادله لگاریتمی دوگانه (معادله ۷) ترسیم کرد.

در مورد اتصالات مثبت همکاری  $n$  بزرگتر از ۱ است و به این معنی است که هنگامی که یک مولکول پروتئین روی سطح نانوذره جذب می شود، اتصال مولکول های پروتئین دیگر به سطح نانو ذرات به روشی فوق خطی افزایش می یابد. برای فعل و انفعالاتی که همکاری منفی دارند  $n$  کمتر از ۱ است و به این معنی است که با اتصال پروتئین های

جدول ۳. پارامترهای پیوند سیستم برهمکنش GSH-AuNCs با BSA در دماهای مختلف در  $pH = 7/4$

T (K)	$K_b (\times 10^4 M^{-1})$	n	$R^2$ <sup>a</sup>
۲۹۸	۸/۸۱	۰/۹۷۷	۰/۹۹۷
۳۰۳	۶/۷۶	۰/۹۸۹	۰/۹۹۸
۳۱۰	۵/۵۵	۰/۹۸۶	۰/۹۹۷

<sup>a</sup>  $R^2$  ضریب همبستگی خطی است.

مقایسه بین ثابت های تشکیل b مربوط به GSH-AuNCs-BSA در غیاب و حضور ترکیبات نشانگر استاندارد می تواند اطلاعات مفیدی در مورد مکان های اتصال ارائه دهد. به منظور تعیین محل اتصال GSH-AuNCs بر روی پروتئین، از وارفارین و ایبوپروفن به عنوان نشانگر BSA برای بررسی اثرات پروتئین در AuNP ها استفاده می شود.

به این منظور، ثابت های تشکیل برای GSH-AuNCs-HSA در غیاب و حضور ترکیبات نشانگر ارزیابی و از رابطه استرن-والمر اصلاح شده محاسبه شدند. نتایج در جدول ۴ ارائه شده است.

جدول ۴. ثابت پیوند ها آزمایش های رقابتی در حضور نشانگر های استاندارد مکان های اتصال در سیستم، AuNCs-BSA در دمای ۳۱۰ درجه کلون و  $pH 7/4$ .

T (K)	Site marker	$K_b (\times 10^4 M^{-1})$	$R^2$
۳۱۰	شاهد	۸/۴۳	۰/۹۹۸
	وارفارین	۵/۶۲	۰/۹۹۷
	ایبوپروفن	۷/۸۸	۰/۹۹۶

<sup>a</sup>  $R^2$  ضریب همبستگی خطی است.

کاهش در اتصال GSH-AuNCs در حضور نشانگر می تواند حاکی از تأثیر این نشانگرها در جذب پروتئین باشد. از جدول ۴ می توان دریافت که ثابت اتصال GSH-AuNCs-BSA به طور قابل توجهی تحت تأثیر حضور وارفارین قرار گرفت، در حالی که تقریباً هیچ تأثیر قابل توجهی بر ثابت اتصال GSH-AuNCs با BSA در حضور ایبوپروفن مشاهده نشد.

این مشاهدات را می توان به این واقعیت نسبت داد که نانوخوشه ها با BSA به گونه ای متصل می شوند که سایت اتصال وارفارین را مسدود می کنند، اما سایت اتصال ایبوپروفن هنوز در حضور نانوخوشه ها فعال می باشند.

## ۴- نتیجه گیری

در این مطالعه، برهمکنش بین GSH-AuNCs ها، به عنوان یکی از نانوخوشه های مهم محلول در آب و فلورسنت، و BSA، به عنوان یک پروتئین حامل مهم، تحت شرایط فیزیولوژیکی شبیه سازی شده  $pH 7/4$  و قدرت یونی  $0/1$  مولار، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجربی نشان داد که فلورسانس ذاتی BSA را می توان با افزایش غلظت AuNCs از طریق مکانیسم استاتیک خاموش کرد. بررسی های ترمودینامیکی نشان داد که واکنش اتصال خود به خود است در حالی که برهم کنش های واندروالس و پیوندهای هیدروژنی نقش عمده ای در فرآیند اتصال دارند. ثابت های پیوند به دست آمده برای کمپلکس های مورد مطالعه با SA در محدوده متوسط قرار دارند، به طوری که برای جلوگیری از توزیع کارآمد آن قدر کم نیستند و آنقدر بالا نیستند که منجر به کاهش غلظت پلاسما شوند. همچنین، مطالعات نشانگر سایت های درگیر شده در برهمکنش رقابتی، امکان اتصال GSH-AuNCs را در سایت I BSA نشان دادند.

## مراجع

1. D. Tian, Z. Qian, Y. Xia, and C. Zhu, *Langmuir* 28, 3945 (2012).
2. K.-Y. Pu, Z. Luo, K. Li, J. Xie, and B. Liu, *J. Phys. Chem. C* 115, 13069 (2011).
3. Z. Shojaeifard, B. Hemmateenejad, and M. Shamsipur, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 8, 15177 (2016).
4. Y. Wang, Y. Cui, Y. Zhao, R. Liu, Z. Sun, W. Li, and X. Gao, *Chem. Commun.* 48, 871 (2012).
5. X. Wu, X. He, K. Wang, C. Xie, B. Zhou, and Z. Qing, *Nanoscale* 2, 2244 (2010).
6. C. Wang, Y. Wang, L. Xu, X. Shi, X. Li, X. Xu, H. Sun, B. Yang, and Q. Lin, *Small* 9, 413 (2013).
7. Y. Tao, Z. Li, E. Ju, J. Ren, and X. Qu, *Chem. Commun.* 49, 6918 (2013).
8. T. Chen, S. Xu, T. Zhao, L. Zhu, D. Wei, Y. Li, H. Zhang, and C. Zhao, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 4, 5766 (2012).
9. Z. Sun, Y. Wang, Y. Wei, R. Liu, H. Zhu, Y. Cui, Y. Zhao, and X. Gao, *Chem. Commun.*

- (Camb). 47, 11960 (2011).
10. D. Shangguan, Z. Tang, P. Mallikaratchy, Z. Xiao, and W. Tan, ChemBioChem 8, 603 (2007).
11. J. Li, X. Zhong, F. Cheng, J. R. Zhang, L. P. Jiang, and J. J. Zhu, Anal. Chem. 84, 4140 (2012).
12. L. Shang, R. M. Dörlich, V. Trouillet, M. Bruns, and G. U. Nienhaus, Nano Res. 5, 531 (2012).
13. C. Zheng, H. Wang, W. Xu, C. Xu, J. Liang, and H. Han, Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc. 118, 897 (2014).
14. O. Khani, H. R. Rajabi, M. H. Yousefi, A. A. Khosravi, M. Jannesari, and M. Shamsipur, Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc. 79, 361 (2011).
15. M. D. Aseman, S. Aryamanesh, Z. Shojaeifard, B. Hemmateenejad, and S. M. Nabavizadeh, Inorg. Chem. 58, 16154 (2019).
16. B. Hemmateenejad and S. Yousefinejad, J. Mol. Struct. 1037, 317 (2013).
17. S. Ranjbar, Y. Shokoohinia, S. Ghobadi, N. Bijari, S. Gholamzadeh, N. Moradi, M. R. Ashrafi-Kooshk, A. Aghaei, and R. Khodarahmi, Sci. World J. 2013, 1 (2013).
18. T. Chakraborty, I. Chakraborty, S. P. Moulik, and S. Ghosh, Langmuir 25, 3062 (2009).
19. Z. Luo, X. Yuan, Y. Yu, Q. Zhang, D. T. Leong, J. Y. Lee, and J. Xie, J. Am. Chem. Soc. 134, 16662 (2012).
20. J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Third (2006).
21. L. Shang, Y. Wang, J. Jiang, and S. Dong, Langmuir 23, 2714 (2007).
22. S. H. D. P. Lacerda, J. J. Park, C. Meuse, D. Pristinski, M. L. Becker, A. Karim, and J. F. Douglas, ACS Nano 4, 365 (2010).
23. A. Selva Sharma and M. Ilanchelian, J. Phys. Chem. B 119, 9461 (2015).
24. G. Scatchard, Ann. N. Y. Acad. Sci. 51, 660 (1949).

# Study on the interaction between glutathione-capped gold nanoclusters (GSH-AuNCs) and bovine serum albumin (BSA) with spectroscopic technique

Zahra Shojaeifard\*, Bahram Hemmateenejad

Department of Chemistry, Shiraz University, Shiraz, Iran

**Abstract:** The interactions of Gold nanoclusters capped with glutathione (GSH-AuNCs) with bovine serum albumin (BSA) have been studied by fluorescence spectroscopic technique at pH 7.4. The quenching constants and binding parameters (binding constants and number of binding sites) were determined by fluorescence quenching method. The obtained results revealed the presence of a static type of quenching mechanism in the binding of GSH-AuNCs with BSA. Based on the thermodynamic parameters extracted from the fluorescence data, it was shown that binding of GSH-AuNCs to BSA was driven mainly by van der Waals and hydrogen bonding interactions. The displacement experiment shows that GSH-AuNCs can bind to the subdomain IIA (site I) of albumin.

**Keywords:** Gold nanoclusters, Bovine serum albumin, Fluorescence spectroscopy.