



Original Article

Introduction and Exploration of Bio-phosphorene: From Synthesis to Biomedical Applications

Nasrin Khazaimpour , Shams Mohajerzadeh* 

School of Electrical and Computer Engineering, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: 2025-01-08

Revised: 2025-07-06

Accepted: 2025-09-17

Abstract: We introduce an innovative combination of phosphorene nanosheets functionalized by sialic acid and examined their biological effect on cancerous cells. The formation of crystalline phosphorene sheets is achieved using a hydrogen-assisted plasma processing, through immersion of the freshly prepared sheets in a sialic-acid containing solution, leading to the formation of covalent bonding of bio-molecules with the phosphorus atoms on the sheet. We have investigated the toxicity of the prepared sheets and their efficacy in drug delivery conducting a series of material and biological assays. For the cancer cells, we have used MDA-MB-231 cell line which is a highly metastatic breast cancer line. We exploited Doxorubicin medication either loaded on bio-phosphorene or in a lonely administration. Apart from high stability of the treated bio-phosphorene sheets, their toxicity and efficacy have been examined on the aforementioned cell line. We employed MTT and flow cytometry analyses to observe the rate of survival or death of the treated cells using various methods. The addition of sialic-acid molecules to the bio-phosphorene leads to a constructive effect on the stability of the sheets in air and aqueous solution. The viability rate for the unloaded bio-phosphorene sheets on MDA-MB-231 cells remains as high as 90% if the concentration of bio-phosphorene sheets stands between 25 and 167 $\mu\text{g}/\text{mL}$. In addition, the viability drops to values close and smaller than 50%, if a combination of infra-red illumination and DOX drug treatment is used.

Keywords: Bio-phosphorene, Infrared illumination, sialic-acid, functionalization

*Corresponding Author. Email: mohajer@ut.ac.ir

How to Cite This Article:



Khazaimpour, N, Mohajerzadeh, S. Introduction and Exploration of Bio-phosphorene: From Synthesis to Biomedical Applications. Nanomeghyas. 2025; 12(2): 210-228. DOI: [10.22034/ns.2025.729264](https://doi.org/10.22034/ns.2025.729264)



©2025 The Author(s). Published by the Iranian Nanotechnology Society under the terms of the CC BY 4.0, Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. To view a copy of this license, visit <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0>



معرفی و بررسی زیست-فسفرین: از سنتز تا کاربرد در زیست پزشکی

نسرین خزامی پور ، شمس الدین مهاجرزاده* 

دانشکده مهندسی برق و کامپیوتر؛ دانشگاه تهران؛ تهران؛ ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۲۶

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۴/۱۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۱۹

چکیده: در این مقاله "زیست-فسفرین"، ترکیبی نوین بر پایه نانوصفحات فسفرین عاملدار شده با اسید سیالیک، به عنوان یک فسفرین پایدار و زیست-سازگار برای کاربردهای زیست پزشکی معرفی شده است. سنتز و عاملداری زیست-فسفرین بدون استفاده از حلال‌های شیمیایی سمی و مشخصه‌یابی آن انجام گرفته است. همچنین قابلیت کاربردی فسفرین زیستی در درمان سرطان به عنوان نانوحامل دارویی و نیز عامل نور-گرما درمانی بررسی شده است. زیست-فسفرین در برابر اکسیداسیون پایدار بوده و دارای سمیت سلولی پایین است. علاوه بر این، نتایج آنالیزهای سلولی انجام شده جهت دارورسانی هدفمند و نور-گرما درمانی سلولهای سرطانی MDA-MB-231 با استفاده از دوکسوروبیسین بارگذاری شده بر روی زیست-فسفرین و تابش فرسرخ (IR) نشان می‌دهد که اگرچه نور-گرما درمانی با زیست-فسفرین به تنهایی قادر به کاهش درصد زندهمانی سلولهای سرطانی به ۷۶٪ می‌باشد اما اثرهم افزایی تابش IR بر دوکسوروبیسین بارگذاری شده بر روی "فسفرین زیستی" به عنوان حامل دارویی، بیشترین تأثیر را بر کاهش حیات سلولهای سرطانی داشته و میزان زندهمانی سلولها را به ۴۰٪ کاهش میدهد. این نتایج بیانگر قابلیت بالای زیست-فسفرین به عنوان یک نانوحامل دارویی مؤثر و قابل اعتماد در زیست پزشکی است.

واژگان کلیدی: زیست-فسفرین، تابش فرسرخ، اسید سیالیک، عاملداری.

* نویسنده مسئول. ایمیل: mohajer@ut.ac.ir

نحوه استناد به این مقاله:

خزامی پور نسرین، مهاجرزاده شمس الدین. معرفی و بررسی زیست-فسفرین: از سنتز تا کاربرد در زیست پزشکی. *نانومقیاس*، ۲۰۲۵، ۱۲(۲)، ۲۱۰-۲۲۸.

DOI: [10.22034/ns.2025.729264](https://doi.org/10.22034/ns.2025.729264)



۱- مقدمه

تجزیه می‌شود، که آن را برای کاربردهای درون‌تنی ایمن می‌سازد [۶]. همین ویژگی سبب شده است فسفرفین در زیست پزشکی چه در حوزه تشخیص و چه در حوزه درمان، به‌ویژه در حسگرهای زیستی، پیشرفت‌های چشمگیری داشته باشد [۷]. حسگرهای ترانزیستور اثرمیدان با استفاده از فسفرفین، به دلیل حساسیت بالا به تغییرات سطحی و تحرک‌پذیری بالای حامل‌ها، قابلیت شناسایی مولکول‌های زیستی و پروتئین‌ها را دارند [۸-۱۰] علاوه بر این، حسگرهای الکتروشیمیایی و فلورسنت مبتنی بر فسفرفین، توانایی شناسایی دقیق بیومولکول‌ها و اسیدهای نوکلئیک را نشان داده‌اند [۱۱ و ۱۲]. در حوزه درمان، نور-گرما درمانی با استفاده از فسفرفین به عنوان عامل فتوترمال، یک جایگزین مؤثر برای روش‌های سنتی درمان سرطان است. ویژگی‌هایی نظیر جذب بالا در محدوده نور مرئی و فروسرخ نزدیک، قابلیت تبدیل انرژی به گرما، و زیست‌سازگاری بالا، فسفرفین را به یک ابزار قدرتمند و مناسب جهت کاربرد در درمان سرطان تبدیل کرده است [۱۳-۱۵]. همچنین، کاربردهای ضدباکتریایی برای آن گزارش شده است [۱۶].

امروزه؛ استفاده از نانو ساختارها بعنوان بخش حامل در سیستم‌های دارورسانی تبدیل به یک زمینه تحقیقاتی جذاب هم برای محققین حوزه نانو و هم حوزه بیولوژی شده است. نانومواد دوبعدی علاوه بر اینکه به دلیل داشتن نسبت سطح به حجم زیاد و ساختار لایه‌ای، گزینه بهتری نسبت به سایر نانوذرات برای ذخیره سازی مولکول‌های دارو هستند، از نظر سهولت سنتز و بازده تولید نیز بر آنها مزیت دارند. در این میان سطح چروکیده لایه‌های فسفرفین، منجر به یک سطح مؤثر و مکان‌های اتمی بیشتری برای تحویل و بارگیری دارو می‌شود. همچنین علاوه بر اینکه بار منفی صفحات فسفرفین امکان بارگیری مولکول‌های کوچک و مثبت دارو را

ظهور نانومواد دوبعدی که با کشف گرافن و شناخت خواص منحصر به فرد آن در سال ۲۰۰۴ آغاز شد، درحقیقت دروازه‌ای بود به سوی دنیای مسحورکننده خواص و کاربردهای نانومواد دوبعدی. ساختار این مواد با لایه‌های کریستالی بسیار نازک با پیوندهای قوی کووالانسی درون صفحه‌ای، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی متفاوتی از نمونه‌های توده‌ای ایجاد می‌کند که چشم‌اندازهای جدیدی برای کاربرد آنها در حوزه‌های زیست‌پزشکی مانند تصویربرداری پزشکی، حسگرهای زیستی، دارورسانی و درمان‌های نوین سرطان مانند نور-گرما درمانی و فتودینامیک تراپی فراهم می‌کند [۱]. فسفرفین که در سال ۲۰۱۴ با جداسازی مکانیکی لایه‌های فسفرسیاه کشف شد نمونه‌ای منحصر به فرد از این دسته از مواد می‌باشد. وجود هیبریداسیون sp^3 اتم‌های فسفر در ساختار فسفرسیاه، عامل ایجاد ویژگی‌های جذاب فسفرفین از جمله ساختار لانه‌زنبوری چروکیده و ساختار باند الکترونیکی منحصر به فرد برای آن شده است [۲]. شرکت هردو اوربیتال‌های s و p در باند ظرفیت و هدایت باعث شده است تا فسفرفین در حالات تک‌لایه، چندلایه و حجمی، دارای شکاف انرژی مستقیم با پهنای متغیر با تعداد لایه‌ها، از 0.3 eV برای حالت حجمی تا 2 eV برای فسفرفین تک‌لایه باشد [۳،۴]. همین شکاف انرژی مستقیم و قابل تنظیم و تحرک‌پذیری بالای حفره‌ها، در فسفرفین ویژگی‌های الکترونیکی و اپتیکی خاصی را برای آن به ارمغان آورده است که نوید بخش فرصت‌های جدیدی در کاربردهایی نظیر ترانزیستورهای اثرمیدان و آشکارسازهای نوری برای این نانوماده دوبعدی نوظهور می‌باشد [۵]. مزیت کلیدی فسفرفین اما سمیت پایین و قابلیت تجزیه‌زیستی آن در بدن است. فسفرفین به راحتی به ترکیبات غیرسمی مانند فسفات

بواسطه نیروهای الکترواستاتیک فراهم می کند، حساسیت و پاسخگویی بالای آن نسبت به pH و نور می تواند سبب کنترل پذیری رهایش دارو نیز باشد [۱۷-۱۸].

با وجود ویژگی‌های منحصر به فردی که در قسمت قبل به آن اشاره شد، فسفرین در معرض دو چالش اساسی قرار دارد: اول، فرآیند سنتز آن، پرهزینه و زمان‌بر بوده و به تجهیزات تخصصی نیاز دارد. اگرچه امروزه در مراکز تحقیقاتی جهان فسفرین را اغلب از جداسازی لایه‌های فسفرسیاه (BP) تهیه می کنند اما سنتز BP فرایندی پیچیده، پرهزینه و زمان‌بر است. درحقیقت فرایندهای سنتز BP همگی فرایندهای دما یا فشار بالا هستند که همین امر موجب شده است تا تنها چهار کشور آمریکا، آلمان، چین و ژاپن قادر به تولید فسفرسیاه در دنیا باشند. تقریباً در تمام کاربردهای بیولوژیکی سنتز فسفرین به روش جداسازی فازمایع انجام می شود، مشکل اصلی این روش استفاده از حلالهای شیمیایی سمی و مضر برای بدن می باشد که جداسازی لایه‌ها از آنها خود کاری دشوار است. از جمله حلالهای پرکاربرد در تولید فسفرین می توان به دی‌متیل سولفواکسید، آن سیکلوهاگزیل-۲-پیرولیدون، نرمال متیل پیرولیدون و دی‌متیل فرم‌آمید اشاره کرد [۱۹-۲۲]. در این روش علاوه بر اینکه به دست آوردن لایه‌های فسفرین یک فرایند زمان‌بر و چند مرحله‌ای است که شامل فراصوت، سانتریفیوژ، جداسازی مواد هدف و مهم‌تر از همه، حذف حلال‌های غیرفرار و مضر است که اغلب یک اشکال برای ساخت و عملکرد دستگاه‌ها می‌باشد، استفاده از این روش برای سنتز فسفرینی که بتوان از آن در کاربردهای بیولوژیکی استفاده کرد چندان منطقی نمی نماید.

دوم اینکه، ناپایداری فسفرین در حضور رطوبت و اکسیژن، مانعی بزرگ برای استفاده عملی آن به شمار می‌رود. به دلیل وجود جفت

الکترون غیرپیوندی در هر اتم فسفر (ناشی از هیبریداسیون sp³) و نسبت سطح به حجم بالا، فسفرین نسبت به ترکیبات اکسیژن، آب و نور بسیار واکنش پذیر است [۲۳]. تلاش‌ها برای پایدارسازی فسفرین شامل عامل‌دار کردن آن با نانوذرات فلزی [۲۴] بعنوان مثال استفاده از نانوذرات طلا [۲۵]، پلاتین [۲۶]، نقره [۲۷]، نیکل [۲۸]، کبالت فسفاید و همچنین استفاده از لایه‌های نازک اکسیدی [۲۹] و نیز پلیمرها [۳۰] و [۳۱] اگرچه با حفظ ساختار الکترونیکی و بهبود مقاومت فسفرین در برابر تخریب محیطی، پتانسیل کاربردهای آن را افزایش داده است اما هریک چالش و ناکارآمدی‌های خود را دارند. در این مقاله برای اولین بار "زیست-فسفرین" معرفی و کاربردهای زیست پزشکی آن بررسی شده است. برای این منظور با استفاده از نتایج تحقیقات خود در زمینه حل چالش‌های سنتز و کاربرد فسفرین، توانستیم با استفاده از فسفرسیاه اولیه که آنرا از فسفرقرمز ارزان قیمت، با تکنیک پلاسمای هیدروژن در آزمایشگاه سنتز نمودیم [۳۲] و با استفاده از مولکولهای زیستی اسید سیالیک (SA) لایه‌های فسفرین را بدون استفاده از حلالهای شیمیایی مضر سنتز و همزمان عامل‌دارسازی نماییم [۳۳]. "فسفرین زیستی"، با ترکیب خواص منحصر به فرد فسفرین و پایداری افزایش یافته، بعنوان فسفرینی ارزان قیمت، پایدار و کاملاً زیست سازگار، یک راهکار نوین برای کاربردهای زیست پزشکی فسفرین ارائه می‌دهد. این ماده، امکان توسعه حسگرها، درمان‌ها، و سیستم‌های دارورسانی پیشرفته را فراهم کرده و می تواند امیدهای تازه‌ای برای کاربردهای بیولوژیکی فسفرین باشد. اما آنچه سبب برتری زیست-فسفرین در حوزه بیولوژی می شود وجود مولکولهای اسید سیالیک به عنوان عامل هدف گیرنده سلولهای سرطانی در یک سیستم دارورسانی هدفمند می باشد که در مقاله دیگری به آن پرداخته شده است.

۲- کارهای تجربی

۱-۲- سنتز زیست-فسفرین

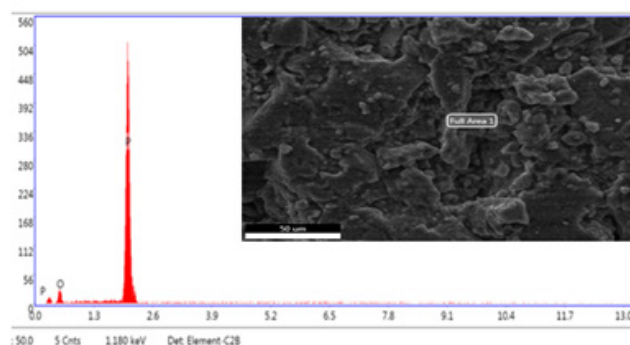
سنتز زیست-فسفرین بعنوان عنصر اولیه این تحقیق با استفاده از روش اعمال پلاسمای هیدروژن و سامانه‌ی لایه‌نشانی بخار شیمیایی پلاسمای مستقیم انجام شده است [۳۳] در اینجا به طور خلاصه به مراحل آن اشاره خواهیم کرد.

۱-۱-۲- مرحله اول: لایه‌نشانی فسفرقرمز اولیه

برای رشد مستقیم فسفرسیاه بر روی ویفر سیلیسیم، ابتدا با استفاده از یک کوره خلاء که

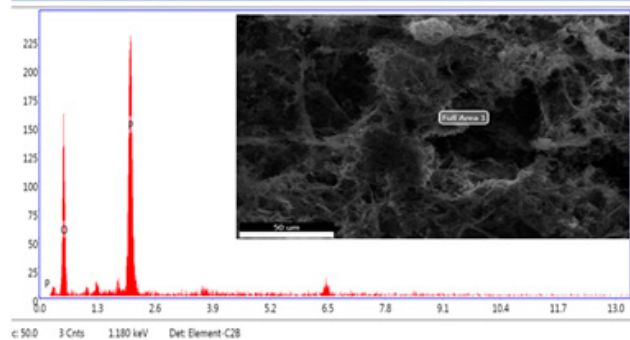
شامل یک منطقه داغ، برای تبخیر فسفرقرمز و منطقه سرد، برای رسوب لایه آمورف روی بستر سیلیکون است یک لایه از فسفرقرمز بی‌شکل بر روی بستر لایه‌نشانی می‌شود.

برای این امر ابتدا 120mg پودر فسفرقرمز؛ (خریداری شده از شرکت مرک Hohenbrunn Germany, خلوص ۹۷٪)؛ برای تهیه قرصی به قطر یک سانتی‌متر و ضخامتی کمتر از یک میلیمتر توسط یک پرس دستی فشرده شده است. این قرص به عنوان منبع لایه‌نشانی فسفر در منطقه داغ کوره و ویفرهای سیلیکونی برش خورده به ابعاد ۱×۱ cm به عنوان بستر لایه‌نشانی در منطقه‌ی سرد کوره قرار می‌گیرند. پس از رسیدن به خلاء مناسب، دمای کوره



eZAF Smart Quant Results

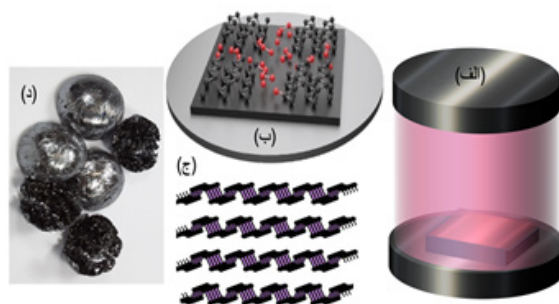
Element	Weight %	Atomic %	Net Int.	Error %	Kratio	Z	A	F
O K	23.2	36.9	4.5	18.0	0.0464	1.1028	0.1814	1.0000
P K	76.8	63.1	79.2	3.1	0.7026	0.9665	0.9465	1.0003



eZAF Smart Quant Results

Element	Weight %	Atomic %	Net Int.	Error %	Kratio	Z	A	F
O K	58.3	73.0	18.6	11.8	0.1889	1.0525	0.3079	1.0000
P K	41.7	27.0	38.2	4.8	0.3349	0.9201	0.8724	1.0010

شکل ۱: تصویر میکروسکوپ الکترونی از قرص فسفرقرمز همراه با آنالیز عنصری EDAX، قبل از اکسید شدن (بالا) و بعد از اکسید شدن در کوره (پایین)



شکل ۲: (الف) طرح واژه الکتروود به کاررفته در عملیات پلاسمای هیدروژن (ب) فرآیند تبدیل فسفر قرمز به سیاه (ج)؛ لایه های فسفرین سنتز شده (د) فسفر سیاه توده ای.

فسفرسیاه، با اعمال پلاسمای هیدروژن به عنوان منبع انرژی خارجی انجام می شود. به این منظور بستر حامل لایه های فسفر قرمز را بر روی الکتروود (شکل ۲ الف) در داخل کوره ی خلأ قرار داده و با رسیدن دمای کوره به ۳۵۰ درجه سانتیگراد، ضمن وارد کردن گاز هیدروژن با جریان ۱۰ SCCM، پلاسمای هیدروژن با توان ۱۲ وات به مدت ۲۰ دقیقه به نمونه ها اعمال خواهد شد. انرژی ناشی از یونهای هیدروژن به اتمهای فسفر منتقل شده و ساختار بلوری مناسب و لایه ای ایجاد می شود.

۲-۱-۳- مرحله سوم: جداسازی لایه های فسفرین از زیر لایه و عاملدار کردن همزمان آنها

اعمال پلاسمای هیدروژن تحت دمای مناسب؛ باعث بلورینگی فسفر قرمز و تبدیل آن به فسفرسیاه می شود. این فرآیند در شکل های ۲ (ب) و (ج) دیده می شود. در این مرحله باید فسفرسیاه تشکیل شده بر روی زیر لایه و یفرسیلیکونی از روی زیر لایه جدا شده و در محلول مناسب که حاوی اسید سیالیک می باشد؛ غوطه ور شود. همانطور که پیشتر نیز اشاره شد روش متداول برای جداسازی لایه های فسفرین، جداسازی در فاز مایع می باشد که در آن فسفرسیاه را درون یک حلال شیمیایی به مدت بسیار طولانی تحت فرایند فراصوت قرار می دهند تا پیوند واندروالس لایه های فسفرسیاه جدا شده و

برای رسیدن به ۴۵۰ درجه ی سانتیگراد تنظیم می شود. در این حین گاز هیدروژن بعنوان گاز حامل، با جریان حدود ۱۰ سانتیمتر مکعب بر دقیقه (SCCM) به داخل کوره هدایت می شود. این شارش دائمی گاز هیدروژن از نفوذ احتمالی هوا به درون کوره و واکنش آن با فسفر قرمز جلوگیری می کند؛ زیرا بر طبق مشاهدات انجام شده؛ اگرچه فسفر قرمز در مقابل اکسید شدن بسیار پایدار است اما خلاء نامناسب اولیه و حضور هرچند کم اکسیژن درون کوره، می تواند سبب اکسید شدن قرص فسفر قرمز در دمای بالا شده و مانع از لایه نشانی مناسب آن گردد. تصویری از قرص فسفر قرمز اکسید شده در چنین شرایطی همراه با آنالیز EDAX آن در شکل ۱ آورده شده است. با رسیدن دما به ۴۵۰ درجه ی سانتیگراد، جریان گاز هیدروژن را به مقدار ۲۰ SCCM افزایش می دهیم تا ضمن تبخیر سطحی، خوشه های فسفر از سطح قرص جدا شده و با همراهی گاز حامل به سطح بستر منتقل شوند. لایه نشانی به مدت ۴۵ دقیقه به طول می انجامد تا لایه ای نسبتاً فشرده، یکنواخت و با ضخامت حدود ۱۰۰ نانومتر بر روی بستر ایجاد شود.

۲-۱-۲- مرحله دوم: تشکیل فسفرسیاه کریستالی

پس از لایه نشانی فسفر قرمز اولیه، تبدیل ماده ی بی شکل فسفر قرمز به ساختارهای بلوری



شکل ۳: طرح واره ای از فرایندهای غوطه‌وری زیر لایه‌های Si پوشیده‌شده با فسفرین در محلول اسید سیالیک (سمت چپ) و سانتریفیوژ برای جدا کردن لایه‌های زیست-فسفرین از لایه‌های ضخیم نامناسب (سمت راست).

پس از اتمام عملیات پلازما، دمای نمونه‌ها تا دمای پایین‌تر از ۳۰۰ درجه سانتیگراد پایین آورده می‌شود و سپس بسترهای سیلیکونی پوشانده شده با لایه‌های فسفر سیاه، بلافاصله در محلول اسید سیالیک با غلظت 0.3 g/l غوطه‌ور می‌شوند تا تعامل مولکول‌های اسید سیالیک با اتم‌های فسفر لایه‌ها آغاز شود. محلولی که ویفرهای سیلیکونی در آن قرار داده شده است را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق در حمام فراصوت قرار می‌دهیم تا ضمن لایه‌برداری فسفرین، لایه‌ها در معرض مولکول‌های اسید سیالیک قرار بگیرد.

۲-۲- مشخصه یابی زیست-فسفرین

با توجه به اینکه در مقالات دیگری؛ مشخصات فیزیکی لایه‌های فسفرین توسط آنالیزهای متعددی مانند طیف‌سنجی رامان، میکروسکوپ الکترونی، طیف‌سنجی FTIR-ATR و طیف‌سنجی فوتوالکترون پرتوایکس مورد مطالعه قرار گرفته‌اند؛ در این مقاله تنها به بررسی پایداری زیست-فسفرین پرداخته خواهد شد. برای این منظور از تصویر برداری میکروسکوپ الکترونی عبوری Philips CM300، میکروسکوپ الکترونی روبشی با FE-SEM Hitachi ۴۱۶۰ و نیز میکروسکوپ نیروی اتمی MDT AFM در حالت غیر تماسی با نوک کاوشگر 30NSG (فرکانس

لایه‌های فسفرین وارد حلال شوند، سپس باید با روش‌های خالص‌سازی این لایه‌های معلق در محلول را از وجود محلول شیمیایی پاک‌سازی نمایند. اما یکی از مزایای روش استفاده شده در سنتز فسفرین در این تحقیق، این است که با بهینه‌سازی شرایط رشد می‌توان شرایط کریستالیزاسیون فسفرسیاه را به گونه‌ای تنظیم نمود که بلور فسفرسیاه حاصل بصورت توده‌ای که در شکل ۲(د) نشان داده شده است؛ نبوده و بلکه لایه‌های مناسب از فسفرین ایجاد شوند. بدین ترتیب؛ با قرار گرفتن در حمام فراصوت در مدت زمانی کوتاه (در حدود ۱۵ دقیقه) می‌توان به لایه‌های فسفرین دست پیدا کرد. استفاده از پلاسمای هیدروژن در تشکیل لایه‌های فسفرین از طریق تبدیل مستقیم لایه‌های آمورف فسفرقرمز به لایه‌های کریستالی، منجر به تشکیل لایه‌هایی بسیار فعال و دارای پیوندهای آزاد سطحی زیاد می‌شود. این فعالیت شدید سطحی سبب می‌شود تا با غوطه‌ور شدن این لایه‌ها در محلول آبی حاوی مولکول‌های اسید سیالیک، چنین مکان‌هایی با گروه‌های کربوکسیل مولکول‌های اسید سیالیک واکنش داده و اتصالات P-O-C ایجاد کنند. اتصال شیمیایی بین بیومولکول‌های اسید سیالیک و اتم‌های فسفر یک پوشش یکپارچه و پایدار روی صفحات فسفرین تشکیل می‌دهد که مانع از اکسید شدن آن می‌شود [۳۳]. برای این منظور

تشدید ۲۴۰ کیلوهرتز) بهره برداری شده است.

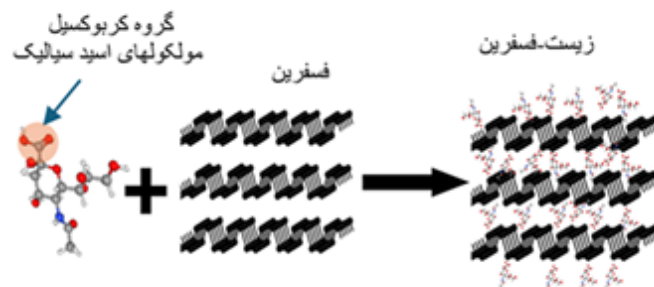
۳-۲- آنالیزهای زیستی

ما برای تایید ادعای خود مبنی بر زیست سازگار بودن زیست-فسفرین از آنالیزهای سمیت سلولی (MTT) و فلوسایتومتری بهره گرفتیم و برای این منظور رده های سلولی MDA-MB-231 و MCF-7 از بانک سلول ملی انستیتوپاستور ایران خریداری شد. این سلول ها در محیط کشت (Dulbecco DMEM (Modified Eagle Medium همراه با ۱۰٪ FBS کشت داده شدند. علاوه بر این اسید سیالیک؛ N-acetylneuraminic؛ از شرکت Sigma-Aldrich خریداری شده و در فرآیند مناسب؛ با فسفرین واکنش میدهد تا زیست-فسفرین ایجاد گردد. از آنجاییکه زیست-فسفرین در محلول اسید سیالیک سنتز می شود؛ ابتدا آنالیزهای سمیت سلولی برای غلظتهای مختلف اسید سیالیک و همچنین فسفرین زیستی انجام شده است. به علاوه تاثیر تابش فروسرخ (IR) بر عملکرد زیست-فسفرین جهت استفاده در نور-گرما درمانی و نیز دارورسانی هدفمند در سلولهای سرطانی در این تحقیق بررسی شده است. برای این منظور از یک لیزر IR با طول موج 808nm و توان 1 w/cm^2 بهره گرفتیم.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی پایداری زیست-فسفرین

فسفرین ماده ای دوبعدی است که با وجود داشتن خواص مطلوب فراوان، زمانی که در معرض اکسیژن و رطوبت محیط قرار می گیرد، به شدت آسیب پذیر است. اتم های فسفر در سطح لایه بسیار تمایل به برقراری پیوند با اکسیژن محیط داشته و وجود پیوندهای آزاد در مرز دانه ها و لبه ها [۳۴] و همچنین عیوب سطحی در طول فرآیند ساخت، چنین تخریبی را تسریع می کند [۳۵]. همانطور که پیشتر نیز بیان شد هدف از عاملدار کردن فسفرین؛ پایداری و عدم تخریب فسفرین در محیط کشت سلولی بوده تا ماده مناسبی برای کاربردهای بیولوژیکی حاصل شود. عاملدار کردن لایه های فسفرین، که در این مقاله گزارش شده است، به عنوان یک مرحله ضروری و بسیار حساس بلافاصله پس از تشکیل فسفرین بر روی ویفرهای سیلیکونی انجام می شود. غوطه وری فوری در محلول حاوی اسید سیالیک و به دنبال آن تحریک فراصوت و سانتریفیوژ با سرعت مناسب منجر به ایجاد لایه هایی با کیفیت، با عرض صفحات ۱۰۰ تا ۲۰۰ نانومتر و ضخامت حدود ۴ نانومتر در محلول می شود. شکل ۴ شماتیکی از ساختار مولکولی



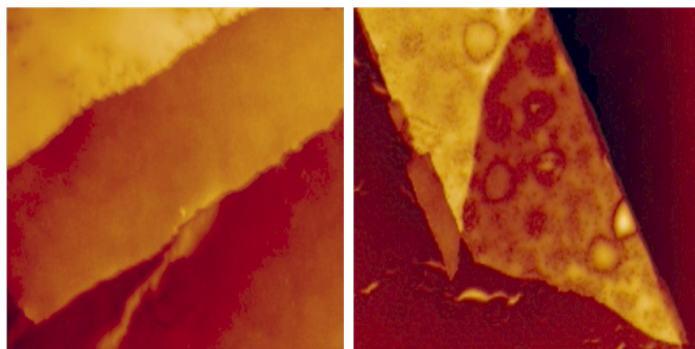
شکل ۴: آرایش اتمی پیشنهادی اتصال مولکولهای اسید سیالیک با محل های موجود روی سطح لایه های فسفرین. گروه کربوکسیل محل مناسبی برای برهمکنش شیمیایی و اتصال با اتم های فسفر است.

۳-۱-۱- بررسی پایداری زیست-فسفرین با میکروسکوپ نیروی اتمی

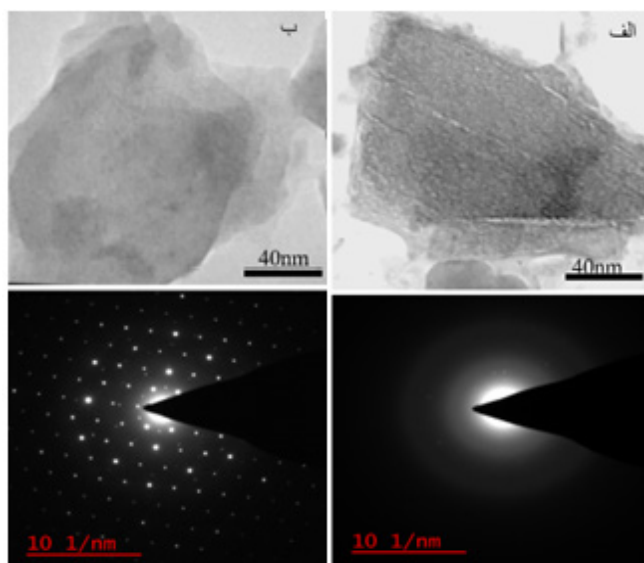
برای مشاهده اثر عاملدارشدن لایه های فسفرین با مولکولهای اسید سیالیک، پایداری لایه های زیست-فسفرین را با لایه های فسفرین بکر (بدون اسید سیالیک) پس از قرار گرفتن در معرض شرایط محیطی یکسان به مدت یک روز مقایسه کرده ایم.

شکل ۵؛ تصاویر AFM این لایه ها را نشان می دهد. با رجوع به این شکل می توان مشاهده کرد، با وجود آنکه هیچ نشانه ای از تخریب یا

لایه های فسفرین را قبل و بعد از قرار گرفتن در معرض اسید سیالیک، به تصویر کشیده است. اتم های فسفر خارجی ضمن برقراری پیوند شیمیایی با گروه کربوکسیل اسید سیالیک، شبکه ای از زنجیره های مولکولی را درست روی سطح لایه بدون نیاز به مولکول پیوند دهنده اضافی تشکیل می دهند. این پیوند شیمیایی پیکربندی را به ساختاری پایدار با قابلیت تبادل الکترون در سطح لایه های فسفرین تبدیل می کند که منجر به پایداری فسفرین شده و از اکسیداسیون و تخریب شدید آنها جلوگیری می کند.



شکل ۵: تصاویر AFM لایه های فسفرین بکر (شکل سمت راست) و زیست-فسفرین (شکل سمت چپ) پس از قرار گرفتن در معرض هوا به مدت یک روز. همانطور که مشاهده می شود؛ زیست-فسفرین نسبت به محیط آبی و هوا؛ پایدار بوده و تغییر محسوسی در آن دیده نمی شود.



شکل ۶: تصویر TEM (الف) تخریب لایه های فسفرین بکر پس از قرار گرفتن در معرض هوا به مدت یک روز و (ب) لایه های زیست-فسفرین بدون هیچ نشانه ای از تخریب به همراه الگوی پراش هریک از نمونه ها.

الگو برای لایه های زیست-فسفرین قوام داشته و ظهور آن حتی بعد از گذر زمان؛ بیانگر کیفیت کریستالی لایه ها و پایداری آن است. نتایج مشاهده شده توسط میکروسکوپ الکترونی همراه با نتایج الگوی پراش الکترونی؛ تایید کننده قوام و پایداری در زیست-فسفرین بوده و با نتایج میکروسکوپ نیروی اتمی که در شکل ۵ آورده شده بود؛ مطابقت دارد.

۳-۲- توزیع اندازه صفحات زیست-فسفرین

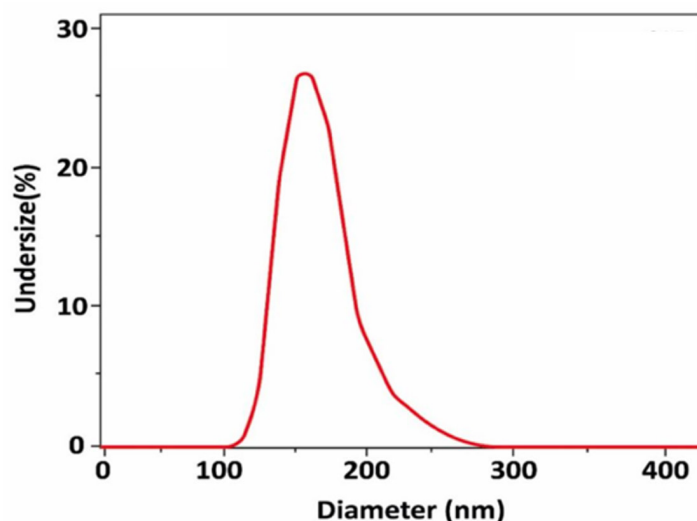
از آنجا که در کاربردهای بیولوژیک به دلیل برهمکنش با سلول، اندازه و ابعاد نانوصفات اهمیت ویژه ای پیدا می کند؛ توزیع اندازه صفحات زیست-فسفرین با استفاده از سامانه پراکندگی نورپویا (Nano ZS90 Zetasizer (DLS) (Malvern Panalytical) تخمین زده شده است. اگر چه تکنیک اندازه گیری DLS برای ساختارهای کروی و بدست آوردن شعاع هیدرودینامیکی آنها معتبر است به عنوان یک روش مکمل همراه با تصویر برداری TEM می تواند در تعیین اندازه نانوصفات مفید باشد. در شکل ۷؛ توزیع اندازه صفحات زیست-فسفرین نشانده داده شده است. بر طبق این اندازه گیری؛ این صفحات در حدود

تشکیل سوراخ برای لایه های زیست-فسفرین مشاهده نمی شود، لایه های فسفرین بکر در برابر تخریب در هوا ناپایدار بوده و سوراخ های بزرگی بصورت الگوهای دایره ای بر روی سطح آنها کاملاً مشهود است.

۳-۱-۲- بررسی پایداری زیست-فسفرین با میکروسکوپ الکترونی عبوری

برای بررسی پایداری لایه ها در شرایط محیطی؛ سطح لایه های فسفرین بکر و لایه های زیست-فسفرین پس از یک روز قرار گرفتن در شرایط محیطی یکسان توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری بررسی شده اند. شکل ۶ (الف) تصویر TEM از تخریب لایه های فسفرین بکر پس از یک روز قرار گرفتن در شرایط محیطی را نشان می دهد که در آن پارگی ها در ساختار لایه ها کاملاً آشکار می باشد.

اما تصویر (ب) لایه های زیست-فسفرین را پس از یک روز قرار گرفتن در شرایط محیطی بدون هیچ نشانه ای از تخریب نشان می دهد. همچنین الگوی پراش الکترونی هر نمونه در زیر آن آورده شده است. همانطور که انتظار می رود تخریب لایه های فسفرین سبب از بین رفتن الگوی پراش آن شده است درحالی که این



شکل ۷: داده های DLS زیست-فسفرین پراکنده در آب، نشان دهنده اندازه متوسط حدود ۱۵۰ نانومتری باشد

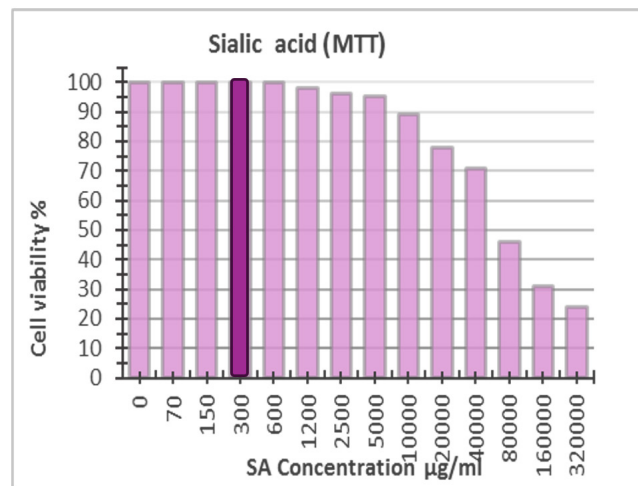
برای سلول‌های MDA-MB-231 تحت غلظت‌های مختلف اسید سیالیک در محدوده ۰/۰۷ تا ۳۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر انجام شده است. با توجه به اینکه عامل‌دار کردن لایه‌های فسفرین سنتز شده در محلول اسید سیالیک انجام می‌شود، در نهایت فسفرین سنتز شده به صورت لایه‌های معلق در محلول اسید سیالیک خواهد بود و از آنجا که این نانوصفات بدون هیچگونه حلال شیمیایی سنتز شده اند، یک محلول کاملاً شفاف بدست می‌آید که نیاز به خالص‌سازی نداشته و می‌توان آن را مستقیماً با همان ترکیب برای آزمایش‌های سلولی استفاده کرد.

۱۵۰ تا ۲۰۰ نانومتر هستند که با نتایج مشاهده در میکروسکوپ الکترونی عبوری همخوانی دارد.

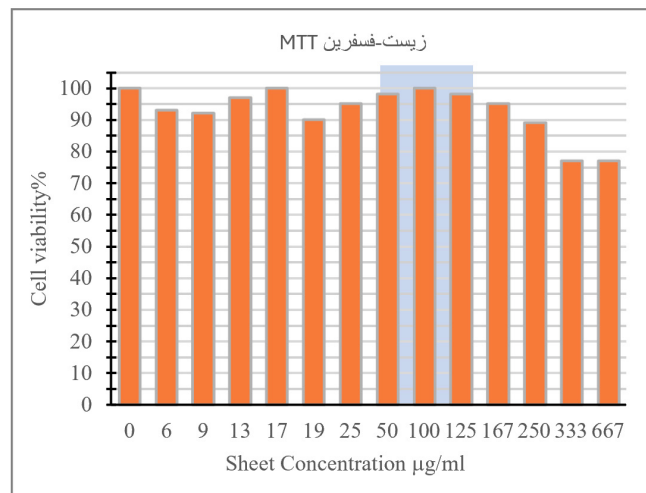
۳-۳ آنالیزهای سلولی

۳-۳-۱ بررسی اثر سمیت سلولی اسید سیالیک در غلظت‌های مختلف

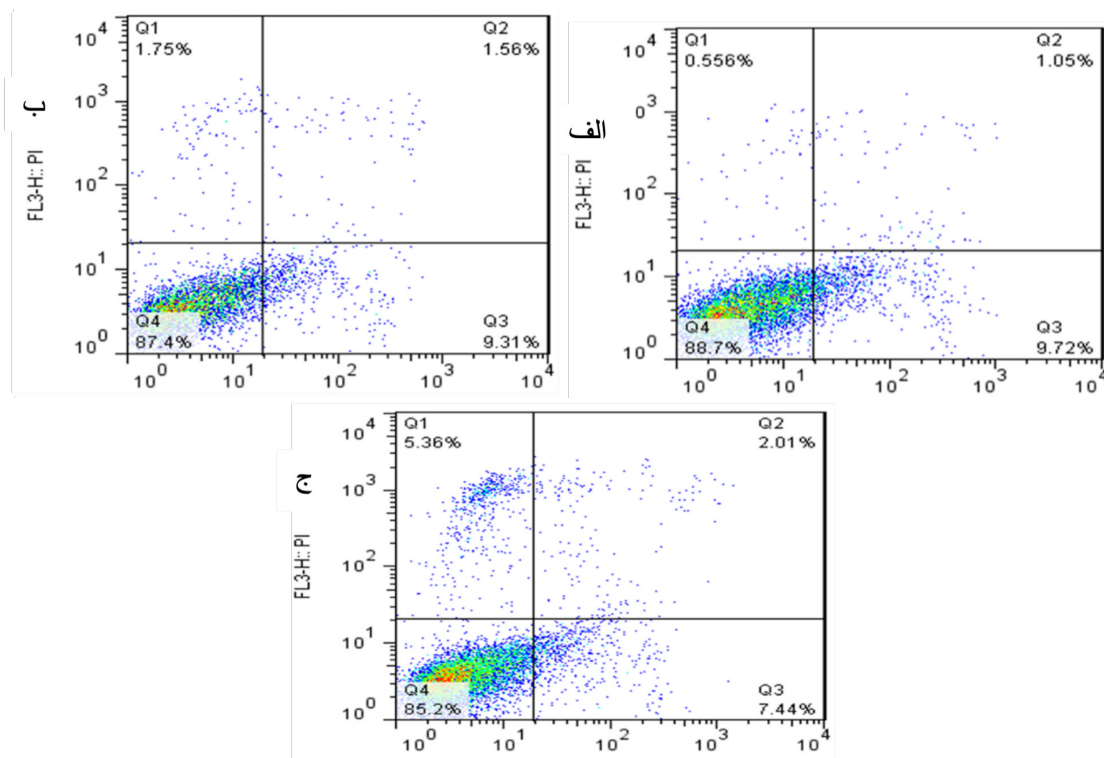
چون زیست-فسفرین در محلول اسید سیالیک با غلظت ۰.۳ mg/ml تهیه شده است، بجاست تا پیش از بررسی عدم سمیت آن ابتدا تاثیر اسید سیالیک را بر زنده‌مانی سلول‌ها بررسی نماییم. برای این منظور تست سمیت سلولی را



شکل ۸: آنالیز MTT دوزهای مختلف اسید سیالیک بر روی رده سلولی MDA-MB-231.



شکل ۹: سنجش سمیت سلولی غلظت‌های مختلف زیست-فسفرین بر روی رده سلولی MDA-MB-231.



شکل ۱۰: آنالیز فلوسایتومتری برای سلول‌های MDA-MB-231. نمونه کنترل (شکل الف)، نمونه درمان شده با "فسفرین زیستی" با غلظت ۱ mg/ml در دوز ۱۲۵ µg/ml (شکل ب) و دوز ۱۶۶ µg/ml (شکل ج).

به طور جداگانه برای غلظت‌های مختلف زیست-فسفرین بر روی سلول‌های MDA-MB-231 انجام شده است. در شکل ۹ درصد زنده‌مانی سلول‌های MDA-MB-231 در غلظت‌های مختلف "فسفرین زیستی" بصورت نمودار ستونی نمایش داده شده است. سلول‌ها با غلظت‌های بین ۱۶۶ µg/ml تا ۶۶۷ µg/ml تیمار شده‌اند. همانطور که در این نمودار مشاهده می‌شود، درصد زنده‌مانی سلول‌ها برای دوزهای بالاتر از ۳۰۰ µg/ml کاهش قابل مشاهده‌ای را به زیر ۸۰٪ نشان می‌دهد درحالی‌که این مقدار برای بقیه نمونه‌ها بالای ۹۰٪ می‌باشد. لازم به ذکر است که در این روش؛ حداکثر غلظتی از زیست-فسفرین که قابلیت سنتز داشته است ۲ g/ml بوده است که معادل دوز ۶۶۷ µg/ml در این آنالیز بوده است. در ادبیات موجود، غلظت فسفرین استفاده شده برای دارورسانی، در محدوده بین ۵۰ تا ۱۵۰ µg/ml می‌باشد. در این نمودار بخوبی مشاهده می‌شود که زیست-فسفرین تهیه شده در این تحقیقات

ابتدا سلول‌ها به تعداد مساوی در شرایط کاملاً یکسان در یک پلیت ۹۶ خانه ریخته شدند. هر خانه با ۱۰۰ µl محلول کشت پر شده است. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون سلول‌های MDA-MB-231 به منظور چسبندگی و رسیدن سلول‌ها به شرایط پایدار، مقدار ۲۵ µl از هر غلظت اسید سیالیک را به هریک از گروه‌های مورد نظر اضافه کرده و پس از گذشت ۲۴ ساعت، آنالیز MTT برای تعیین سمیت سلولی نمونه‌ها انجام شده است. همانطور که در شکل ۸ مشاهده می‌شود، نمونه تیمار شده با غلظت‌های بالای ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر درصد زنده ماندن کمتر از ۸۰٪ را نشان می‌دهد در حالی‌که درصد زنده ماندن برای نمونه تیمار شده با اسید سیالیک با غلظت mg/ml ۰/۳ (۳۰۰ µg/ml) به ۱۰۰٪ می‌رسد. برای مشاهده اثر سمیت سلولی زیست-فسفرین با توجه به غلظت لایه های فسفرین در محلول "فسفرین زیستی" دوز مصرفی آن در حجم محلول کشت حاوی سلول‌ها تعیین و آنالیز MTT

سلول‌های این دو نمونه به ترتیب برابر با مقدار ۹۸/۵٪ و ۹۶٪ به دست می‌آید که با مقدار به دست آمده از نمودار MTT نزدیک است.

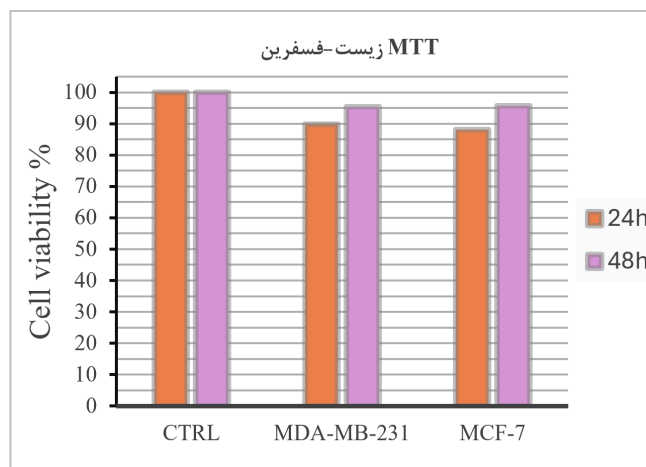
۳-۳-۳- بررسی اثر سمیت سلولی "فسفرین زیستی" بر سلول‌های متفاوت

سمیت غلظتهای یکسانی از زیست-فسفرین بر روی دو رده سلولی MCF-7 و MDA-MB 231 بعد از گذشت ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت اندازه‌گیری و با هم مقایسه شدند. همانطور که در نمودارها به خوبی دیده می‌شود در همه تستها درصد زنده‌مانی سلول‌ها بالای ۸۵٪ بوده است و این بیانگر عدم سمیت سلولی "فسفرین زیستی" می‌باشد.

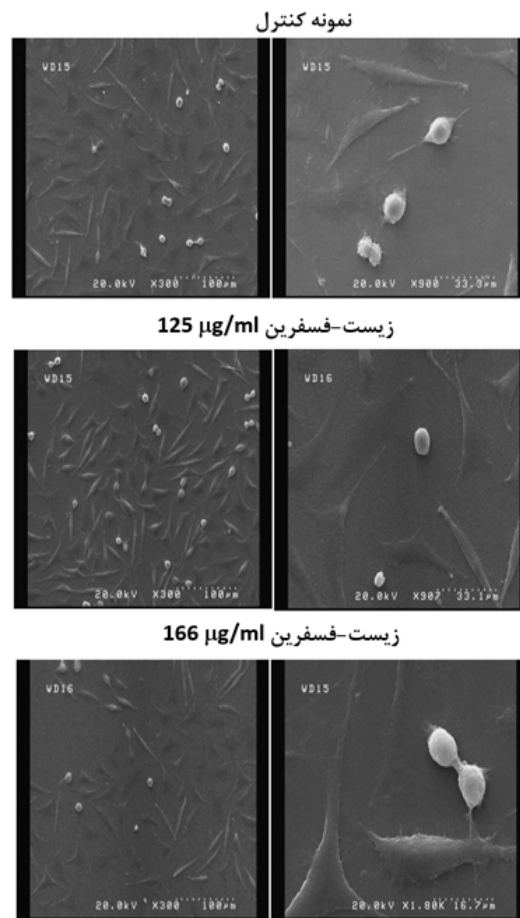
۳-۳-۴- تصویر برداری از سلول‌ها با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

اگرچه برای بررسی اثر دارو بر سلول‌ها باید از آنالیزهای تشخیص سمیت سلولی استفاده شود که توضیح آن پیشتر داده شد، اما معمولا اولین آزمایش، مشاهده سلول‌ها با میکروسکوپ می‌باشد که گزارشی اولیه از شرایط سلول‌ها را ارائه می‌دهد. برای این منظور و ثبت مشاهدات؛ از سلول‌های MDA-MB-231 تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی روبشی شده است.

در این محدوده غلظت، قابلیت زنده‌مانی بالای ۹۰٪ داشته و کاملاً غیرسمی است. غلظتی از زیست-فسفرین که برای استفاده در دارورسانی و IR درمانی در ادامه کار از آن استفاده شده است؛ معادل ۱ mg/ml بوده است. این غلظت معادل دوزهای ۱۲۵ و ۱۶۶ μg/ml در آزمایش فوق است و مقدار زنده‌مانی سلولی در این دو مقدار به ترتیب ۹۸٪ و ۹۵٪ با توجه به نمودار MTT می‌باشد. برای اطمینان بیشتر؛ از آنالیز فلوسایتومتری برای تعیین سمیت این دو غلظت از زیست-فسفرین بهره گرفته شده است. در آنالیز فلوسایتومتری سلول‌ها در چهار ناحیه Q₁, Q₂, Q₃, Q₄ تشخیص داده می‌شوند. ناحیه Q₁ و Q₂ به ترتیب مربوط به سلول‌های کاملاً مرده و در حال مرگ است، ناحیه Q₃ مربوط به سلول‌هایی است که تازه به فاز مرگ رفته اند است و در نهایت ناحیه Q₄ مربوط به سلول‌های زنده است. همانطور که در شکل ۱۰ برای نمونه کنترل (الف) مشاهده می‌شود، ۸۸/۷٪ از سلول‌ها در مرحله Q₄ هستند که مربوط به حالت زنده است. این مقدار برای نمونه درمان شده با زیست-فسفرین با غلظت ۱ mg/ml و دوز ۱۲۵ μg/ml (ب) برابر با ۸۷٪/Q₄=4، و برای دوز ۱۶۶ μg/ml (ج) برابر با ۸۵٪/Q₄=2 است که با تقسیم درصد زنده‌مانی این نمونه‌ها به درصد زنده‌مانی نمونه کنترل، زنده‌مانی نسبی



شکل ۱۱: نمودار میزان سمیت سلولی فسفرین بر روی رده های سلولی MCF-7 و MDA-MB-231، بعد از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت.



شکل ۱۲: تصاویر SEM در دو بزرگنمایی متفاوت از سلول‌های MDA-MB-231؛ بدون درمان (نمونه کنترل) و تحت تاثیر "زیست-فسفرین" با غلظت ۱۲۵ µg/ml و ۱۶۶ µg/ml

هیچگونه تفاوتی مشاهده نمی‌شود.

۳-۳-۵- استفاده از زیست-فسفرین در درمان سلول‌های سرطانی

شیمی‌درمانی یکی از روش‌های اصلی درمان سرطان است اما عدم انتخاب‌گزینه‌های داروهای شیمی‌درمانی که اغلب سبب عوارض جانبی شدید بر روی اندام‌های سالم می‌شود محدودیت اصلی شیمی‌درمانی معمول سرطان است که عواقبی همچون سمیت سیستماتیک بالا و محدودیت دوزهای بالای دارویی را به دنبال دارد. از این رو استفاده از روش‌های درمانی مانند IR درمانی به عنوان روش‌های غیرتهاجمی در درمان سرطان و همچنین استفاده از سیستم‌های دارورسانی هدفمند بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. انتخاب‌گزینه‌های شیمی‌درمانی را می‌توان با استفاده از یک سیستم دارورسانی هدفمند

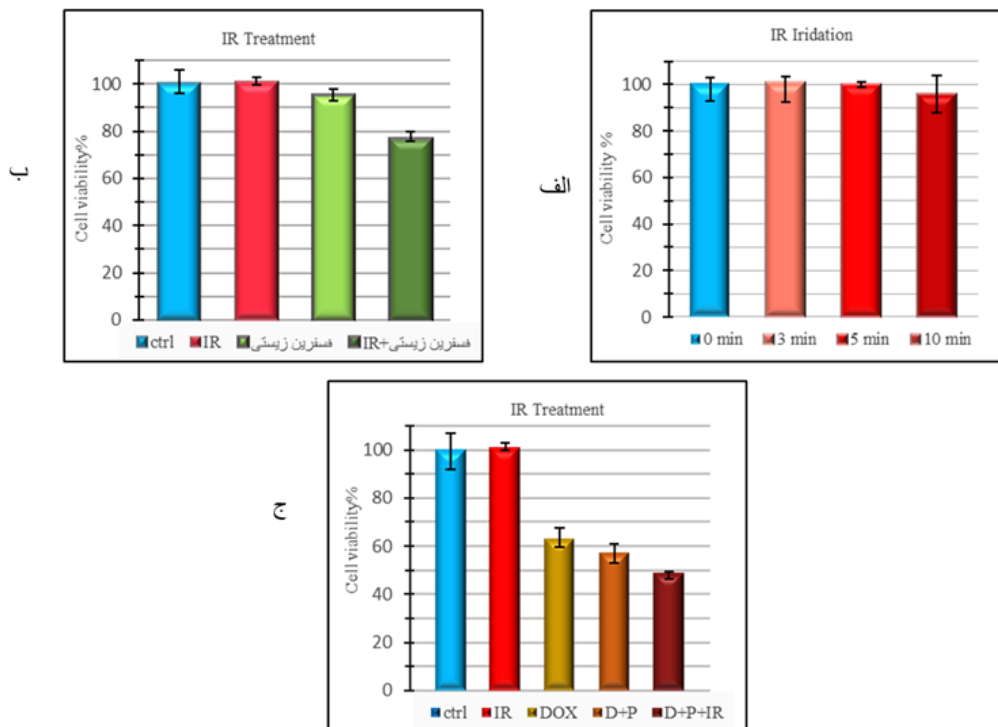
برای عکس‌برداری از سلول‌ها با میکروسکوپ الکترونی ابتدا باید سلول‌ها را با استفاده از محلول گلو تار آلدئید، تثبیت کرد تا پس از خشک کردن محلول کشت سلول‌ها شکل طبیعی خود را حفظ کنند. در نهایت بعد از لایه‌نشانی طلا، نمونه‌ها جهت عکسبرداری وارد محفظه SEM می‌شود. در شکل ۱۲ تصاویر SEM با دو بزرگنمایی متفاوت از سلول‌های MDA-MB-231 تحت تاثیر زیست-فسفرین با غلظت ۱ mg/ml؛ ۱۲۵ µg/ml و ۱۶۶ µg/ml نشان داده شده است. همانطور که قابل انتظار می‌نمود، هیچگونه شواهدی از مرگ و تخریب سلولی در تصاویر دیده نمی‌شود. در حقیقت در تصاویر سلول‌های MDA-MB-231 تحت تاثیر "فسفرین زیستی" با تصویر سلول‌های نمونه کنترل که فاقد "فسفرین زیستی" می‌باشد

هرخانه جداگانه تحت تابش IR قرار گرفته است. فاصله قرارگیری لیزر از سطح پلیت به اندازه ای انتخاب شده که توان تابشی به سلولها برابر 1 W/cm^2 باشد. سپس آنالیز MTT برای تعیین زنده مانی سلولها انجام شد. همانطور که از نمودار الف بخوبی مشهود است تابش IR در مدت زمانهای ۳ و ۵ دقیقه تاثیری بر سلامت و زنده مانی سلولها نداشته و درصد زنده مانی نسبت به نمونه کنترل کاهشی را نشان نمی دهد، تنها در نمونه تحت تابش به مدت ۱۰ دقیقه، میتوان شاهد کاهش ۵٪ در میزان زنده مانی سلولها بود. در مرحله بعد تاثیر تابش ۵ دقیقه ای IR بر روی گروه دیگری از سلولهای MDA-MB-231 که به مدت ۲۴ ساعت تحت تاثیر زیست-فسفرین با غلظت $1125 \mu\text{g/ml}$ بوده اند بررسی شده است.

همانطور که در نمودار (ب) از شکل ۱۳ قابل مشاهده است درحالیکه نمونه "فسفرین زیستی" دارای زنده مانی سلولی ۹۵٪ می باشد، این مقدار برای نمونه حاوی زیست-فسفرین تحت تابش ۵ دقیقه ای IR به ۷۶٪ کاهش می یابد. این کاهش ۱۹٪ در میزان زنده مانی سلولها

که معمولاً شامل سه جزء اساسی، دارو، حامل و قسمت هدف گیرنده می باشد، به طور قابل توجهی افزایش داد [۳۶] و [۳۷]. ما در مقاله ای دیگر نحوه ساخت و کارکردهای یک سیستم دارورسانی هدفمند را بر پایه "فسفرین زیستی" معرفی و بررسی کرده ایم که در آن از "فسفرین زیستی" به عنوان حامل و از دوکسوروبیسین به عنوان دارو استفاده شده است، همچنین اسید سیالیک موجود در زیست-فسفرین به عنوان قسمت هدفگیرنده در این سیستم دارورسانی هدفمند بررسی شده است.

در این تحقیق، ما تاثیر تابش فرسرخ (IR) در رهایش داروی دوکسوروبیسین لود شده بر روی "فسفرین زیستی" که آنرا به اختصار D+P می نامیم، با استفاده از آنالیز سلولی MTT بررسی خواهد شد. برای بررسی جذب و تاثیر تابش فرسرخ (IR) بر زیست-فسفرین از یک لیزر با طول موج 808 nm استفاده شده است. در مرحله نخست، تاثیر IR در مدت زمانهای تابش ۳ و ۵ و ۱۰ دقیقه ای بر روی سلولهای سرطانی-MDA-MB-231 بررسی شد. بدین منظور سلولهای-MDA-MB-231 به تعداد مساوی در شرایط کاملاً یکسان در یک پلیت ۹۶ خانه، بخته و بس، از ۲۴ ساعت انکوباسیون،



شکل ۱۳: نمودارهای آنالیز MTT برای (الف): تابش IR در زمانهای مختلف، (ب): بررسی اثر IR درمانی با "فسفرین زیستی" و (ج) تاثیر تابش IR در رهایش داروی دوکسوروبیسین از "فسفرین زیستی" بعنوان حاملهای دارویی در دارورسانی هدفمند.

IR و یا به دلیل افزایش حساسیت سلول‌های سرطانی به تابش IR و بدن‌بال آن کاهش مقاومت دارویی آنها و نفوذپذیری بیشتر دارو باشد.

۴- نتیجه گیری

در این مقاله، زیست-فسفرین معرفی و بررسی شده است که با ترکیب خواص منحصر بفرد فسفرین و پایداری افزایش یافته، یک راهکار نوین و مقرون به صرفه برای کاربردهای زیست پزشکی ارائه می‌دهد. سنتز زیست-فسفرین با استفاده از تبدیل فسفرقرمز بعنوان یک ماده اولیه ارزان قیمت به فسفر سیاه و عاملدار شدن توسط مولکول‌های زیستی اسید سیالیک، بدون نیاز به حلال‌های شیمیایی، انجام شده است.

در کاربردهای درمانی، زیست-فسفرین به عنوان یک نانوحامل دارویی میتواند اثربخشی داروی دوکسوروبیسین را افزایش دهد. نتایج نشان داده است که دوکسوروبیسین لود شده بر روی زیست-فسفرین نسبت به دوکسوروبیسین تنها؛ اثر بیشتری در کاهش میزان حیات سلولی سرطان دارد. بررسی اثر تابش فرسوخ (IR) بر سلول‌های سرطانی در حضور زیست-فسفرین حاکی از قابلیت استفاده آن در نور-گرما درمانی سلول‌های سرطانی می‌باشد. همچنین اثر هم‌افزایی قوی‌ای در کاهش زنده‌مانی سلول‌ها در تابش IR بر سلول‌های سرطانی تحت تاثیر دوکسوروبیسین لود شده بر روی زیست-فسفرین مشاهده شده است. یافته‌ها نشان می‌دهد که دوکسوروبیسین لود شده بر روی زیست-فسفرین همراه با تابش IR، بیشترین تأثیر را بر کاهش حیات سلول‌های سرطانی داشته و میزان زنده‌مانی سلول‌ها را به ۴۰٪ کاهش می‌دهد. این اثر می‌تواند ناشی از آزادسازی کنترل شده دارو تحت تابش IR و افزایش حساسیت سلول‌های سرطانی باشد. اگرچه برای تأیید و بهینه‌سازی این نتایج، مطالعات بیشتری نیاز است اما این یافته‌ها

می‌تواند نتیجه جذب IR توسط لایه‌های "فسفرین زیستی" و بیانگر تاثیر نور-گرما درمانی این لایه‌ها باشد. البته تعیین چگونگی و میزان دقیق اثر IR درمانی "فسفرین زیستی" نیاز به بررسی‌ها و انجام آنالیزهای بیشتر دارد که در دست انجام می‌باشد.

در مرحله نهایی برای تعیین اثر تابش IR بر رهایش دارویی در دارورسانی هدفمند، از یک سیستم دارورسانی هدفمند که بر پایه "فسفرین زیستی" ساخته شده است استفاده کردیم. میزان حیات سلولی پنج گروه سلولی شامل: کنترل (بدون درمان)، تابش IR، گروه درمان شده با DOX به تنهایی، گروه درمان شده با دوکسوروبیسین لود شده بر روی "فسفرین زیستی" و در نهایت گروه درمان شده با "فسفرین زیستی" به همراه تابش IR پس از اعمال درمان‌ها، با استفاده از روش استاندارد MTT سنجیده شد. همانطور که از نمودار (ج) در شکل ۱۳ بخوبی روشن است، تابش فرسوخ به تنهایی تأثیر قابل توجهی در کاهش حیات سلولی نداشته و میزان حیات سلولی در گروه IR تقریباً مشابه گروه کنترل (۱۰۰٪) است.

در گروه DOX، داروی دوکسوروبیسین به تنهایی میزان حیات سلولی را به حدود ۶۰٪ کاهش داده است و البته این کاهش برای گروه دوکسوروبیسین لود شده بر روی "فسفرین زیستی" تا میزان ۵۰٪ کاهش یافته است این یافته با مطالعات پیشین دارورسانی هدفمند کاملاً همخوانی دارد. اعمال تابش IR در گروه دوکسوروبیسین لود شده بر روی زیست-فسفرین اما بیشترین اثر کاهشی را بر میزان حیات سلولی داشته است و میزان حیات سلولی را به حدود ۴۰٪ کاهش داده است. این نتیجه بیانگر یک اثر هم‌افزایی قوی بین دوکسوروبیسین لود شده و تابش فرسوخ است. دلیل این اثر هم‌افزایی می‌تواند به واسطه تسهیل آزادسازی تدریجی دارو از زیست-فسفرین به واسطه تابش

- J. Xu, X. Lu, "Black Phosphorus and its Biomedical Applications," Ivyspring International Publisher 8(4): 1005-1026, 2018. <https://doi.org/10.7150/itho.22573>
- [7] M. Luo, T. Fan, Y. Zhou, H. Zhang, L. Mei, "2D Black Phosphorus-Based Biomedical Applications," *Adv. Funct. Mater.*, 1808306, 2019. <https://doi.org/10.1002/adfm.201808306>
- [8] M. Qiu, W. X. Ren, T. Jeong, M. Won, G. Y. Park, D. K. Sang, L.P. Liu, H. Zhang, J. S. Kim, "Omnipotent phosphorene: a next-generation, two-dimensional nanoplatform for multidisciplinary biomedical applications," *Chemical Society Reviews* 47, no. 15: 5588-5601, 2018. <https://doi.org/10.1039/C8CS00342D>
- [9] Y. Chen, R. Ren, H. Pu, J. Chang, Sh. Mao, J. Chen, "Field-effect transistor biosensors with two-dimensional black phosphorus nanosheets," *Biosens Bioelectron.*, 15;89(Pt 1):505-510, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.03.059>
- [10] H. Asgharian, M. Khodayari, M. Rajabali, Sh. Mohajezadeh, "Molecule-induced n-type behavior of phosphorene-based field-effect transistor for highly sensitive detection of sialic acid," *Electrochimica Acta*, 469, p.143228, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2023.143228>
- [11] V. Kumar, J. B. Brent, M. Shorie, H. Kaur, G. Chadha, A.G. Thomas, "A Nanostructured Aptamer-Functionalised Black Phosphorus Sensing Platform for Label-Free Detection of Myoglobin, a Cardiovascular Disease Biomarker," *ACS Appl Mater Interfaces*, 8: 22860-8201, 2016. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b06488>
- [12] Y.T. Yew, Z. Sofer, C. Mayorga-Martine, M. Pumera. "Black phosphorus nanoparticles as a novel fluorescent sensing platform for nucleic acid detection," *Mater Chem Front*;1:1130-6, 2017. <https://doi.org/10.1039/C6QM00341A>
- [13] Ch. Su, H. Zhong, H. Chen, Y. Guo, Zh. Guo, D. Huang, W. Zhang, Q. Wu, B. Yang, Zh. Liu, "Black phosphorus-polypyrrole nanocomposites for high-performance photothermal cancer therapy," *New Journal of Chemistry*, 2019. <https://doi.org/10.1039/C9NJ01249D>
- [14] Zh. Sun, H. Xie, S. Tang, X. Yu, Zh. Guo, J. Shao, H. Zhang, H. Huang, H. Wang, P. K. Chu, "Ultrasmall Black Phosphorus Quantum Dots: Synthesis and Use as Photothermal Agents," *Angew. Chem. Int. Ed.*, 54, 11526-11530, 2015. <https://doi.org/10.1002/anie.201506154>
- [15] A. Fu, Zh. Li, H. Xie, Zh. Sun, B. Wang, H. Huang, H. Wang, P. K. Ch, X. Yub, "Different-sized black phosphorus nanosheets with good cytocompatibility and high photothermal performance," *RSC Adv.*, 7,

می تواند نویدبخش استفاده از زیست-فسفرین در حوزه‌های پیشرفته‌تر از جمله تحقیقات بالینی باشد. زیست-فسفرین به دلیل دارا بودن مولکول‌های اسید سیالیک، به عنوان عامل هدف‌گیرنده سلول‌های سرطانی، می تواند یک تحول نوین در سامانه‌های دارورسانی و حسگرهای زیستی بوده که علاوه بر رفع چالش‌های فسفرین سنتی، امیدهای تازه‌ای برای استفاده از فسفرین در زیست‌پزشکی به ارمغان آورده است.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله بدین وسیله اعلام می‌دارند که در ارتباط با انجام، تحلیل، نگارش و انتشار این پژوهش، هیچ‌گونه تعارض منافع مالی، شخصی، علمی یا سازمانی وجود ندارد.

منابع

- [1] P. Kumbhakar, J.S. Jayan, A. S. Madhavikutty, P.R. Sreeram, A. Saritha, T. Ito, Ch. S. Tiwary, "Prospective applications of two-dimensional materials beyond laboratory frontiers: A review," *iScience* 26(5):106671, April 2023. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.106671>
- [2] M. Akhtar, G. Anderson, R. Zhao, A. Alruqi, J. E. Mroczkowska, G. Sumanasekera. J. B. Jasinski, "Recent advances in synthesis, properties, and applications of Phosphorene," *npj 2D Materials and Applications*, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41699-017-0007-5>
- [3] T. Vy, R. Soklaski, Y. Liang, L. Yang, "Layer-controlled band gap and anisotropic excitons in few-layer black phosphorus," *Physical Review B* 89.23: 235319, 2014. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.89.235319>
- [4] Q. Jingsi, X.Kong, Zh. Hu, F. Yang, W. J. Jingsi, "High-mobility transport anisotropy and linear dichroism in few-layer black phosphorus," *Nature communications* 5: 4475, 2014. <https://doi.org/10.1038/ncomms5475>
- [5] S.M.S Seyed, M. Roshankar and M. Pourfath, "A First-Principle Study of Phosphorene-based Gas Sensors" *Nanomeghyas*, 2019, Vol. 5, issue 4, pp. 295-303, Winter 2019 (in persian).
- [6] J. R. Choi, K. W. Yong, J. Y. Choi, A. Nilghaz, Y. Lin,

- 2019.<https://doi.org/10.1002/ejic.201801219>
- [25] J. Hu, G. Zhenkun, P. E. McWilliams, J. E. Darges, D. L. Druffel, A. M. Moran, C. S. Warren, "Band gap engineering in a 2D material for solar-to-chemical energy conversion," *Nano letters* 16, no. 1, 74-79, 2016.<https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.5b02895>
- [26] G. P. Lee, J. Sunwoo, J. Soohwan, K. Jihyun, "Platinum-functionalized black phosphorus hydrogen sensors," *Applied Physics Letters* 110, no. 24 2017.<https://doi.org/10.1063/1.4985708>
- [27] W. Lei, T. Zhang, P. Liu, J.A. Rodriguez, G. Liu, M. Liu, "Bandgap and local field-dependent photoactivity of Ag/black phosphorus nanohybrids," *ACS Catalysis*, 6(12), 8009-8020, 2016. <https://doi.org/10.1021/acscatal.6b02520>
- [28] M. Caporali, M. Serrano-Ruiz, F. Telesio, S. Heun, G. Nicotra, C. Spinella, M. Peruzzini, "Decoration of exfoliated black phosphorus with nickel nanoparticles and its application in catalysis," *Chemical Communications*, 53(79), 10946-10949, 2017. <https://doi.org/10.1039/C7CC05906J>
- [29] J. D. WOOD, S. A. Wells, D. Jariwala, K.S. Chen, E. Cho, V. K. Sangwan, X. Liu, L. J. Lauhon, T. J. Marks, M. C. Hersam, "Effective passivation of exfoliated black phosphorus transistors against ambient degradation," *Nano letters*, 14(12), pp.6964-6970, 2014.<https://doi.org/10.1021/nl5032293>
- [30] S.R. Suryawanshi, M.A. More, D.J. Late, "Exfoliated 2D black phosphorus nanosheets: Field emission studies," *Journal of Vacuum Science & Technology B* 1;34(4), 2016.<https://doi.org/10.1116/1.4945433>
- [31] E. Passaglia, F. Cicogna, G. Lorenzetti, S. Legnaioli, M. Caporali, M. Serrano-Ruiz, A. Ienco, M. Peruzzini, "Novel polystyrene-based nanocomposites by phosphorene dispersion," *RSC advances*, 6(59), pp.53777-53783, 2016.<https://doi.org/10.1039/C6RA10133J>
- [32] M. Rajabali, M. Esfandiari, H. Asgharian, Sh. Mohajerzadeh, "Evolution of Phosphorene Sheets through Direct Crystallization of Thin-Film Red Phosphorous," *physica status solidi (RRL)-Rapid Research Letters*, 2019.<https://doi.org/10.1002/pssr.201900432>
- [33] N. Khazamipour, A. Souri, O. Babae, B. Dadashnia, P. Soltan-Khamsi, S. Mousavi, Sh. Mohajerzadeh, "Linker-free Functionalization of Phosphorene Nanosheets by Sialic Acid Biomolecules," *Langmuir* 40, 7067-7077, 2024.<https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.4c00128>
- [34] A. Favron, E. Gauffrès, F. Fossard, A.L. Phaneuf-L'Heureux, N. Y. Tang, P. L. Lévesque, A. Loiseau, R. Leonelli, S. Francoeur, R. Martel, "Photooxidation and quantum confinement effects in exfoliated black phosphorus," *Nature materials* 14.8: 826. 2015. 14618-14624 |14619, 2017.<https://doi.org/10.1039/C7RA00160F>
- [16] Z. Sun, Y. Zhang, H. Yu, C. Yan, Y. Qu, S. Hong, H. Tao, A. Robertson, Z. Wang, A.A.H,"New solvent-stabilized few-layer black phosphorus for antibacterial applications", *Padua, Nanoscale*, 2018. <https://doi.org/10.1039/C8NR03513J>
- [17] W. Chen, J. Ouyang, H. Liu, M. Chen, K. Zeng, J. Sheng, Z. Liu, Y. Han, L. Wang, J. Li, L. Deng, Y. Liu, Sh. Guo, "Black Phosphorus Nanosheet-Based Drug Delivery System for Synergistic Photodynamic/Photothermal/Chemotherapy of Cancer" *Adv. Mater*, 29, 1603864, 2017.<https://doi.org/10.1002/adma.201603864>
- [18] W. Tao, X. Zhu, X. Yu, X. Zeng, Q. Xiao, X. Zhang, X. Ji, X. Wang, J. Shi, H. Zhang, L. Mei, "Black Phosphorus Nanosheets as a Robust Delivery Platform for Cancer Theranostics" *Adv. Mater*, 29, 1603276, 2017.<https://doi.org/10.1002/adma.201603276>
- [19] P. Yasaei, B. Kumar, T. Foroozan, C. Wang, M. Asadi, D. Tuschel, J. E. Indacochea, R. F. Klie, A. Salehi-Khojin, "High-quality black phosphorus atomic layers by liquid-phase exfoliation", *Advanced Materials* 27.11: 1887-1892, 2015.<https://doi.org/10.1002/adma.201405150>
- [20] J. R. Brent, N. Savjani, E. A. Lewis, S. J. Haigh, D. J. Lewis, P. O'Brien, "Production of few-layer phosphorene by liquid exfoliation of black phosphorus," *Chemical Communications* 50.87: 13338-13341, 2014.<https://doi.org/10.1039/C4CC05752J>
- [21] J. Kang, J. D. Wood, S. A. Wells, J. H. Lee, X. Liu, K. S. Chen, M. C. Hersam, "Solvent exfoliation of electronic-grade, two-dimensional black phosphorus," *ACS nano* 9.4: 3596-3604, 2015. <https://doi.org/10.1021/acsnano.5b01143>
- [22] Z. Yan, X. He, L. She, J. Sun, R. Jiang, H. Xu, F. Shi, Z. Lei, Z. H. Liu, "Solvent-assisted liquid-phase exfoliation of large size and high quality black phosphorus," 4, 129-134, 2018.<https://doi.org/10.1016/j.jmat.2018.01.003>
- [23] M. Akhtar, G. Anderson, R. Zhao, A. Alruqi, J. E. Mroczkowska, G. Sumanasekera, J. B. Jasinski, "Recent advances in synthesis, properties, and applications of phosphorene," *npj 2D Materials and Applications*, 2017.<https://doi.org/10.1038/s41699-017-0007-5>
- [24] M. Peruzzini, R. Bini, M. Bolognesi, M. Caporali, M. Ceppatelli, F. Cicogna, S. Coiai, S. Heun, A. Ienco, I.I. Benito, A. Kumar, "A perspective on recent advances in phosphorene functionalization and its applications in devices," *European journal of inorganic chemistry* 2019, no. 11-12: 1476-1494A,

56:61-70, 2005.<https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2004.12.010>

- [37] S. Jayant, J. Khandare, Y. Wang, A. P. Singh, N. Vorsa, T. Minko, "Targeted Sialic Acid-Doxorubicin Prodrugs for Intracellular Delivery and Cancer Treatment" *Pharmaceutical Research*, Vol. 24, No. 11, 2007.<https://doi.org/10.1007/s11095-007-9406-1>

<https://doi.org/10.1038/nmat4299>

- [35] P. W. Bridgman, "Further note on black phosphorus," *Journal of the American Chemical Society* 38.3: 609-612, 1916.<https://doi.org/10.1021/ja02260a008>
- [36] N. Aouali, L. Eddabra, J. Macadre, H. Morjani, "Immuno-suppressors and reversion of multidrug-resistance," *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*