

بررسی اثر محیط (نسبت آب - اتانول) در طیف جذب آنتراسن جهت استفاده در نورپویا درمانی با استفاده از نانوذرات سولفید مس

چکیده

اهداف: امروزه پروتکل‌های رایج در درمان‌های سرطان، مانند جراحی، شیمی‌درمانی و رادیوتراپی، به دلیل اشکالات خاص خود مانند زخم‌عمل جراحی، مقاومت دارویی شیمی‌درمانی، و برخی علائم مزمن پرتودرمانی و غیره به سختی رضایت‌بخش هستند. در این میان نورپویادرمانی به عنوان روشی جدید برای درمان سرطان با عوارض جانبی کمتر بسیار مورد توجه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش نانوذرات سولفیدمس با استفاده از یک روش آسان و کم‌هزینه سنتز شده و توانایی آن در آشکارسازی اکسیژن یکتایی در محیط‌های متفاوت (نسبت آب به - اتانول) مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: به منظور بررسی خصوصیات ساختاری و ویژگی‌های نوری نانوذرات سولفیدمس آنالیزهای پراش اشعه ایکس، میکروسکوپ الکترونی عبوری، طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوری و طیف ماوراء بنفش - مرئی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. از لیزر 808 نانومتر (توان 1 وات بر سانتیمتر مربع) به‌عنوان منبع تابش استفاده شد. تمامی آنالیزها تشکیل نانوذره ذکر شده را تایید کردند و اندازه نانوذرات سولفیدمس تقریباً 10 نانومتر بدست آمد.

نتیجه‌گیری: مطالعه آزمایشگاهی نشان می‌دهد که نانوذرات سولفیدمس دارای اثر نورپویادرمانی عالی تحت تابش لیزر 808 نانومتر هستند که می‌توانند به‌طور موثر اکسیژن یکتایی را برای از بین بردن سلول‌های سرطانی تولید کنند. بنابراین نانوذرات سولفیدمس می‌توانند به‌عنوان ماده حساس به نور زیست‌سازگار و قدرتمند برای درمان نورپویا کارآمد مورد استفاده قرار بگیرند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که افزایش نسبت آب به اتانول باعث کاهش دقت پروب آنتراسن در شناسایی اکسیژن یکتایی در پدیده نورپویادرمانی می‌شود بنابراین حلال اتانول به عنوان بهترین حلال برای تولید اکسیژن یکتایی انتخاب و مورد استفاده قرار گرفت. علاوه بر این، تکرارپذیر بودن نتایج در محیط اتانولی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج بدست آمده فرآیند تکرارپذیری تولید اکسیژن یکتایی با استفاده از نانوذرات سولفیدمس را تایید می‌کند.

واژگان کلیدی: نورپویادرمانی، ماده حساس به نور، فروسرخ نزدیک، نانوذرات سولفیدمس، آنتراسن

فاطمه غریب‌زاده (MSc)¹
محسن محرابی (PhD)^{*1}
حسین شیرکانی (PhD)¹
صادق کریمی (PhD)²

1. گروه فیزیک، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

2. گروه شیمی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

نویسنده مسئول: محسن محرابی

پست الکترونیکی:

E. mail: m.mehrabi@pgu.ac.ir

مقدمه

کارور، شخص متصدی کارکردن با دستگاهی خاص است. کارور لیزر کسی است که با دستگاه لیزر کار می‌کند و هدایت و کنترل آن را برعهده دارد. با گسترش روزافزون کاربرد لیزر در صنعت و پزشکی با افزایش کارور لیزر روبه‌رو هستیم.

سرطان یکی از نگران‌کننده‌ترین بیماری‌ها به‌ویژه در کشورهای توسعه یافته است. سالانه نزدیک به 8 میلیون نفر بر اثر سرطان جان خود را از دست می‌دهند [1]. جراحی، شیمی‌درمانی یا رادیوتراپی و... از درمان‌های مرسوم سرطان هستند. باین‌حال، بسته به نوع سرطان هنوز درمان موثری برای آن پیدا نشده است. علاوه‌براین، درمان‌های موجود معمولاً باعث عدم انتخاب‌پذیری برای سلول‌های سرطانی، عوارض جانبی و سمیت بالایی برای سلول‌های طبیعی می‌شوند [2]. در سال‌های اخیر، نورپویادرمانی¹ با انتخاب‌پذیری و ایمنی فوق‌العاده به‌عنوان یک گزینه درمانی امیدوارکننده برای درمان سرطان شناخته شده است. نورپویادرمانی در مقایسه با درمان‌های مرسوم، مزایای واضحی از جمله (1) از بین بردن سلول‌های غیرطبیعی بدون آسیب به اندام‌های سالم (2) عوارض جانبی کمتر (3) مقاومت نبودن به دارو (4) غیرتهاجمی بودن (5) سازگاری بالای بیمار (6) کاهش بازگشت تومور (7) سمیت سیستمیک کم دارد. نورپویادرمانی یک روش تاییدشده توسط سازمان غذا و داروی ایالات متحده برای درمان سرطان‌ها و سایر بیماری‌های خوش‌خیم [3,4] و یک روش درمانی برای سرطان‌های بدخیم خاص (مانند سرطان‌های گوارشی، پوست، سر و گردن، و سرطان‌های زنان) و همچنین غیربدخیم (مانند دژنراسیون ماکولا² (یا تباهی لکه‌زرد) وابسته به سن، پسوریازیس³ و شرایط پیش‌بدخیم (به‌عنوان مثال کراتوز آکتینیک⁴) است [5]. در نتیجه، نورپویادرمانی غیرتهاجمی به یک استراتژی امیدوارکننده در

چند دهه گذشته تبدیل شده است. نورپویادرمانی از سه عنصر اساسی تشکیل شده است: اکسیژن، یک داروی حساس به نور⁵ و یک طول‌موج خاص از نور فعال‌کننده دارو. در نورپویادرمانی، ابتدا ماده حساس به نور به بیمار تزریق می‌شوند یا برای مدت معینی در سطح پوست پوشانده می‌شوند تا اطمینان حاصل شود که ماده حساس به نور به بافت‌های درونی نفوذ کرده باشد، سپس نور با طول‌موج‌های مناسب به بافت هدف تابیده می‌شود. هنگامی که یک ماده حساس به نور توسط نور فعال می‌شود، آبشارهای انتقال انرژی آغاز می‌شوند و گونه‌های فعال اکسیژن⁶ مانند اکسیژن یکتایی، رادیکال‌های آزاد اکسیژن و غیره تولید می‌کنند. گونه‌های فعال اکسیژن سمی ممکن است از طریق اکسیداسیون DNA، RNA، پروتئین و غشای اندامک سلولی / زیر سلولی باعث مرگ سلولی نکروز و آپوپتوز شود [5-1]. به‌طور خلاصه، ماده حساس به نور در حالت برانگیخته از دو نوع مکانیسم معروف به مکانیسم نوع 1 و نوع 2 پیروی می‌کند. مکانیسم نوع 1 شامل انتقال اتم هیدروژن به شکل رادیکال‌های آزاد است. رادیکال‌های آزاد با اکسیژن مولکولی تعامل دارند و آن را به رادیکال‌های اکسیژن تبدیل می‌کنند. در مکانیسم نوع 2، انتقال انرژی بین ماده حساس به نور در حالت برانگیخته و اکسیژن مولکولی حالت پایه معروف به اکسیژن سه‌گانه (3O₂) صورت می‌گیرد. انتقال انرژی منجر به تشکیل اکسیژن یکتایی (1O₂) می‌شود. اکسیژن یکتایی عمر بسیار کمی دارد و به سرعت با مولکول‌های زیستی واکنش نشان می‌دهد و در نتیجه باعث آسیب به سلول‌های سرطانی می‌شود (شکل 1) [4,6,7].

¹ photodynamic therapy (PDT)

² Macular degeneration

Psoriasis³

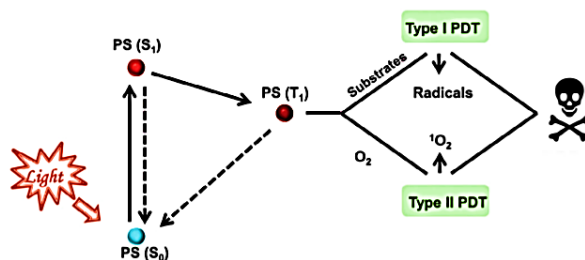
⁴ Actinic keratoses

⁵ Photosensitizer (PS)

⁶ ROS

ازسوی دیگر، نور کم انرژی ($\lambda > 850$ نانومتر) در تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی به دلیل اثرات حرارتی ناشی از انتقال سریع غیرتابشی و شکاف انرژی باریک کمتر موثر است. طول موج‌های کوتاه‌تر نور، بیشترین پراکندگی را در بافت‌ها دارند و نفوذ آنها محدود است؛ بنابراین، مواد حساس به نور جذب‌کننده فوتون‌های قرمز یا نزدیک به فرسرخ (بین 650 تا 850 نانومتر) بیشترین پتانسیل را دارند زیرا این طول‌موج‌ها به طور موثر در بافت‌ها نفوذ می‌کنند. در کل استفاده از مواد حساس به نور با قله جذب در طول‌موج‌های بیش از 700 نانومتر (یا حتی بالاتر) باید حداقل عمق نفوذ را دو برابر کند و در نتیجه درمان تومورهای ضخم‌تر را امکان‌پذیر کند. [3,8,9].

به‌طور گسترده گزارش شده است که نانوذرات سولفید مس را تحت تابش نور 980 نانومتر قرار می‌دهند، که در لبه افزایشی جذب بافت‌ها قرار دارد و همچنین می‌تواند توسط آب جذب شود. در نتیجه، انرژی گرمایی بیش‌ازحد تولیدشده از لیزر جذب‌شده ممکن است یک اثر حرارتی غیرضروری بر روی بافت‌های نرمال ایجاد کند، که قدرت لیزر تابش‌شده را محدود می‌کند و تهدیدی برای توسعه درون بدنی آنها به‌شمار می‌رود. این نانوذرات را می‌توان با تابش تک نوری تحریک کرد زیرا مونوسولفید مس همچنین دارای جذب نسبی شدید در لیزر 808 نانومتر برای انجام اثر نورپویادرمانی و نورگرمادرمانی است. نکته مهم این است که جذب آب لیزر 808 نانومتری کمتر از 20/1 آن در 980 نانومتر است، بنابراین پیروزمندانه بر اثر گرمای بیش‌ازحد غلبه می‌کند و همچنین از عوارض جانبی بافت‌های نرمال جلوگیری می‌شود [10]. اگرچه این مزایا ثابت شده‌اند، دستیابی به کارایی بهتر نورپویادرمانی برای درمان سرطان مانند، محتوای اکسیژن کم در محل‌های تومور و نفوذ ضعیف نور نیز هنوز چالش‌برانگیز است. نانوذرات یک فناوری درحال ظهور در نورپویادرمانی هستند که می‌تواند بر بسیاری از محدودیت‌های مواد حساس به نور مرسوم ارگانیک استفاده شده مانند حلالیت در آب ضعیف غلبه کند



شکل 1- شماتیک مراحل نورپویادرمانی: مکانیسم نوع 1 و نوع 2

یک ماده حساس به نور ایده‌آل دارای شرایط زیر است: غیرسمی در شرایط تاریک، انباشت انتخابی در بافت‌های سرطانی، فارماکوکینتیک¹ مناسب در داخل بدن (بخشی از داروسازی که با جذب و پخش و دفع دارو در بدن سر و کار دارد)، ضرایب باندهای جذب شدید در پنجره نوردرمانی (630-850 نانومتر) برای به حداکثر رساندن نفوذ نور و ماهیت آمفیفیلیک برای اطمینان از حلالیت در محیط‌های آبی [2]. مانع دیگری که استفاده از نورپویادرمانی را محدود می‌کند، عمق نفوذ محدود نور برانگیخته است. مهم‌ترین کروموفورهای² (یا رنگ‌بر) بافت عبارتند از آب، اکسی‌هموگلوبین³ و دنوکسی‌هموگلوبین⁴، ملانین⁵ و سیتوکروم⁶. طیف‌جذبی این مولکول‌ها پنجره نوری نورپویادرمانی را در بافت مشخص می‌کند. این کروموفورها، از جمله هموگلوبین و ملانین، جذب قوی در قسمت مرئی طیف زیر 630 نانومتر دارند. بنابراین، یک ماده حساس به نور ایده‌آل باید قله جذب بالای 630-700 نانومتر داشته باشد تا نفوذ بافت را به حداکثر برساند. با در نظر گرفتن اینکه آب در ناحیه مادون قرمز نزدیک جذب می‌شود و با افزایش طول موج انرژی کاهش می‌یابد، نور در محدوده 700 تا 1000 نانومتر مناسب‌ترین برای نفوذ به بافت عمیق است.

¹ Pharmacokinetic

² Chromophore

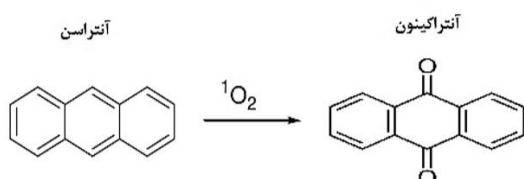
³ Oxyhemoglobin (HbO₂)

⁴ Deoxyhemoglobin

⁵ Melanin

⁶ Cytochromes

داشت. ساختار شیمیایی دو ماده آنتراسن و آنتراکینون در شکل 2 قابل مشاهده است.



شکل 2- ساختار شیمیایی و تبدیل آنتراسن به آنتراکینون در حضور اکسیژن یکتایی.

در این پژوهش، سولفید مس به عنوان ماده حساس به نور انتخاب شده است و تغییر نسبت آب به اتانول جهت استفاده از پروب آنتراسن برای تولید اکسیژن یکتایی در پدیده نورپویا درمانی مورد بررسی قرار گرفته است. قیمت پایین این نانوذره به علت روش سنتز آسان و کم هزینه آن در مقایسه با سایر ماده‌های حساس به نور، کاربردهای عملی آن را تسهیل می‌کند. از لیزر 808 با توان یک وات بر سانتی متر مربع به عنوان منبع تابش استفاده شده است.

مواد و روش‌ها

پس از بررسی پتانسیل مواد مختلف در کار نورپویا درمانی، نانوذرات سولفید مس به دلیل بازده بسیار خوب در درمان سرطان انتخاب شد. سپس روش‌های مختلف سنتز نانوذره انتخاب شده در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت روش سنتز انتخابی به دلیل مزایای سنتز آسان و امکان تولید انبوه در آینده مورد توجه و استفاده قرار گرفت. در این پژوهش نانوذرات سولفید مس به عنوان ماده حساس به نور در درمان سرطان به روش نورپویا درمانی مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد

برای سنتز نانوذرات سولفید مس پیش‌ماده‌های هگزادسیل‌تری متیل‌آمونیم برومید (CTAB)، و مس کلرید 3 آب (CuCl₂·3H₂O) از شرکت Merck و ماده سدیم سولفید 9 آب (Na₂S·9H₂O) از شرکت SIGMA-ALDRICH خریداری شد. ماده آنتراسن مورد استفاده برای سنجش اکسیژن یکتایی با فرمول ملکولی C₁₄H₁₀ نیز

در این کار نانوذرات سولفید مس¹ تولید می‌شوند و پتانسیل آنها در روش نورپویا درمانی مورد بررسی قرار می‌گیرد. اخیراً، نانوذرات سولفید مس به دلیل هزینه کم، زیست تخریب‌پذیری بالا، بازده تولید اکسیژن یکتایی عالی و همچنین سادگی تولید آن، به عنوان یک گروه جدید از عوامل نورپویا درمانی با بازده بسیار خوب ظاهر شده‌اند [10]. مهمترین عامل مورد بررسی در نورپویا درمانی سنجش میزان اکسیژن یکتایی است. یکی از ویژگی‌های اکسیژن یکتایی گسیل نور در طول موج 1250 نانومتر است اما به دلیل اینکه اکسیژن‌های یکتایی نیمه‌عمرهای بسیار کوتاهی از مرتبه میکروثانیه دارند امکان آشکارسازی آنها به صورت مستقیم بسیار سخت و پیچیده است. لذا روش‌های جایگزینی برای آشکارسازی اکسیژن یکتایی استفاده می‌شود. بسته به ماهیت دقیق برهمکنش با یک مولکول حسگر، تغییر در ساختار آن را می‌توان با تکنیک‌های طیف‌سنجی مختلف مانند: رزونانس مغناطیسی هسته‌ای، رزونانس اسپین الکترون، جذب مرئی - ماوراء بنفش یا فلورسانس بررسی کرد. در روش جذب مرئی - ماوراء بنفش پروب‌های مختلفی مانند: 9,10-آنتراسن دیپیل - بیس (متیلن) دیمالونیک اسید²، 10,9-آنتراسن دی‌پروپیونیک اسید³، 1,3-دی‌فنیل‌ایزوبنزوفوران⁴ و... جهت آشکارسازی اکسیژن یکتایی وجود دارد. یکی دیگر از این پروب‌ها، ماده آنتراسن است [13,14,15]. آنتراسن با فرمول ملکولی C₁₄H₁₀، یک هیدروکربن آروماتیک چند حلقه‌ای از خانواده بنزن، پودر سفیدرنگی است با فلورسانس آبی - بنفش، که در فرآیند اکسیداسیون، در فاز مایع یا گاز به آنتراکینون (ماده‌ای بدون فلورسانس) تبدیل می‌شود. با مطالعه طیف جذبی آنتراسن، به طور غیرمستقیم می‌توان تولید اکسیژن یکتایی را اثبات کرد. که هر چقدر اکسیژن بیشتر تولید شود، مقدار آنتراسن بیشتری به آنتراکینون تبدیل شده و شدت جذب و یا نشر آنتراسن، کاهش بیشتری خواهد

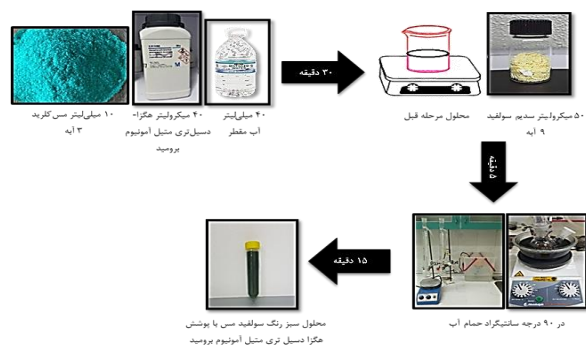
¹ Copper monosulfide (CuS)

² 9,10-anthracenediyl-bis(methylene)dimalonic acid (ABDA)

³ 9,10-anthracenedipropionic acid (ADPA)

⁴ 1,3-diphenylisobenzofuran (DPBF)

تری متیل آمونیوم برومید با رنگ سبز تیره پس از 15 دقیقه واکنش تشکیل می‌شود. سپس مخلوط بدست آمده بلافاصله در آب سرد قرار داده شد. شماتیک مراحل سنتز سولفیدمس در شکل 3 آورده شده است.



شکل 3- شماتیک مراحل سنتز سولفیدمس

آشکارسازی و تشخیص غیرمستقیم اکسیژن یکتایی

مهمترین عامل مورد بررسی در نورپویا درمانی سنجش میزان اکسیژن یکتایی است. یکی از ویژگی‌های اکسیژن یکتایی گسیل نور در طول موج 1250 نانومتر است اما به دلیل اینکه اکسیژن‌های یکتایی نیمه‌عمرهای بسیار کوتاهی از مرتبه میکروثانیه دارند امکان آشکارسازی آنها به صورت مستقیم بسیار سخت و پیچیده است. لذا روش‌های جایگزینی برای آشکارسازی اکسیژن یکتایی استفاده می‌شود. یکی از این روش‌ها، استفاده از ماده آنتراسن است. که در این پژوهش به منظور شناسایی اکسیژن‌های یکتایی و اندازه‌گیری‌های غیرمستقیم سمیت سلولی ایجاد شده توسط نانوذرات، از آنتراسن استفاده خواهد شد و با مطالعه طیف جذبی آنتراسن، به طور غیرمستقیم می‌توان تولید اکسیژن یکتایی را اثبات کرد. که هر چقدر اکسیژن بیشتر تولید شود، مقدار آنتراسن بیشتری به آنتراکینون تبدیل شده و شدت جذب و یا نشر آنتراسن، کاهش بیشتری خواهد داشت.

از شرکت مرک خریداری شد. تمامی مواد شیمیایی، معرف‌ها و حلال دارای خلوص آزمایشگاهی و واکنشگری بوده و بدون تصفیه و خالص‌سازی بیشتر مورد استفاده قرار گرفتند.

مشخصه‌یابی

مورفولوژی و اندازه نانوذرات سولفیدمس با استفاده از تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) (مدل EM10C – 100 KV)، شرکت ZEISS (کشور آلمان) و پراش پرتو ایکس (XRD) بررسی شد. الگوهای پراش با استفاده از دستگاه پراش اشعه ایکس ساخت کمپانی BRUKER آلمانی مدل Advance D8 با پرتو نگاری $K\alpha - Cu$ و زاویه روبشی $10 \leq \theta \leq 80$ ثبت شدند. جهت تعیین قطر هیدرودینامیکی متوسط ذرات از آنالیز پراکندگی لیزر دینامیک یا تفرق نور پویا (DLS) استفاده شد. این دستگاه مدل SZ-100 و ساخت شرکت Horiba ژاپن است. طیف مادون قرمز آنها با استفاده از اندازه‌گیری طیف‌سنجی FTIR مدل FT/IR 4600 (JASCO، کمپانی) ساخت کشور ژاپن اندازه‌گیری شد. طیف جذب UV-vis در اسپکتروفتومتر UV-مرئی مدل SPECORD 250 و ساخت کشور آلمان اندازه‌گیری و ثبت شد.

سنتز نانوذرات سولفیدمس

نانوذرات سولفیدمس سنتز شده در این پژوهش با استفاده از یک روش آسان و کم‌هزینه و مطابق با روش مشابهی [16، 17] با تغییرات جزئی انجام شد. برای سنتز نانوذرات سولفیدمس با پوشش هگزادسیل تری متیل آمونیوم برومید، 10 میلی‌لیتر محلول آبی مس کلرید 3 آبه (0.85 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و 40 میکرولیتر هگزادسیل تری متیل آمونیوم برومید (25 درصد وزنی محلول) به 40 میلی‌لیتر آب افزوده شد. این مخلوط به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق روی یک همزن مغناطیسی هم زده شد. پس از آن، 50 میکرولیتر سدیم سولفید 9 آبه (60.54 میلی‌گرم بر 250 میکرولیتر) به مخلوط اضافه شده و قبل از انتقال به حمام آب 90 درجه سانتی‌گراد، برای پنج دقیقه دیگر مجدداً همزده شد. نانوذره سولفیدمس با پوشش هگزادسیل

مشاهده است، نانوذرات به خوبی در محلول آبی پراکنده شدند و اندازه متوسط نانوذرات بسیار کوچک است.

جهت تعیین توزیع قطر هیدرودینامیکی متوسط نانوذرات سولفیدمس از آنالیز تفرق نورپویا استفاده شد. همان‌طور که در شکل 4-پ مشاهده می‌شود، توزیع قطر هیدرودینامیکی متوسط ذرات 4.9 ± 9.6 نانومتر را برای نانوذرات سولفیدمس نشان داد. علاوه بر این، مقدار PDI^2 برای نمونه نانوذرات سولفیدمس برابر با 0.26 است که نشان دهنده توزیع یکنواخت بسیار عالی اندازه ذرات نمونه سنتز شده می‌باشد.

شکل 4-ت طیف مادون قرمز تبدیل فوریه نانوذرات سولفیدمس با پوشش هگزادسیل تری‌متیل‌آمونیم برومید را نشان می‌دهد. نوار مشخصه در 3297 cm^{-1} به کشش هیدروکسیل O-H گروه الکلی و ارتعاش کشش آمید N-H که به ترتیب نشان‌دهنده وجود مقدار کمی آب جذب شده روی نمونه و وجود پوشش هگزادسیل تری‌متیل‌آمونیم برومید در سولفیدمس است، نسبت داده می‌شود. یک قله جذب نسبتاً قوی در 1637 cm^{-1} به ارتعاش کششی نامتقارن N^+-CH_3 ناشی از وجود پوشش هگزادسیل تری‌متیل‌آمونیم برومید نسبت داده شد [21]. همان‌طور که در شکل نیز نشان داده شده است، سولفیدمس با پوشش هگزادسیل تری‌متیل‌آمونیم برومید یک پیک جذب گسترده را در محدوده 500 تا 600 cm^{-1} نشان می‌دهد که مربوط به ارتعاشات کششی پیوند Cu-S و مشخصه سولفیدمس است. نتایج بدست‌آمده این پژوهش با آنالیز طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه سولفیدمس تایید شد [32-21].

طیف جذبی نانوذرات سولفیدمس سنتز شده توسط طیف‌سنجی مرئی - ماوراءبنفش ثبت شده بر روی یک اسپکتروفتومتر در محدوده اسکن 200-1100 نانومتر ثبت شدند. طیف جذب مرئی - ماوراءبنفش (شکل 4-د) نانوذرات سولفیدمس یک قله جذب شدید را در ناحیه ماوراءبنفش و مادون قرمز نزدیک با قله تقریباً 980

آشکارسازی اکسیژن یکتایی خارج سلولی با یک پروب آنتراسن¹ اندازه‌گیری شد. به‌طور خلاصه، 0.0004 گرم آنتراسن در 30 میلی‌لیتر اتانول تحت دمای 50 درجه سانتی‌گراد حل شد. سپس به منظور شبیه‌سازی محیط تولید اکسیژن یکتایی با بدن انسان که از آب تشکیل شده است، 8 میلی‌لیتر حلال آب و اتانول بدست‌آمده با نسبت‌های متفاوت (0-100، 10-90، 20-80، 30-70، 40-60 و 50-50) ترکیب شدند و سولفیدمس با مقدار یکسان 3.5 میلی‌لیتر در آنها ترکیب شد. محلول بدست‌آمده برای دو گروه مورد بررسی بدون و با تابش تقسیم شد. برای نمونه‌های مورد درمان با تابش، برای تشخیص اکسیژن یکتایی، منبع نور (808 نانومتر) برای القای اثر نورپویا استفاده شد. جذب محلول در 357 نانومتر در نقاط زمانی تعیین شده با استفاده از اسپکتروفتومتر UV-vis تحت تابش لیزر NIR (1W/cm²، 10 دقیقه) ثبت شد.

یافته‌ها

آنالیز ساختاری و مورفولوژی

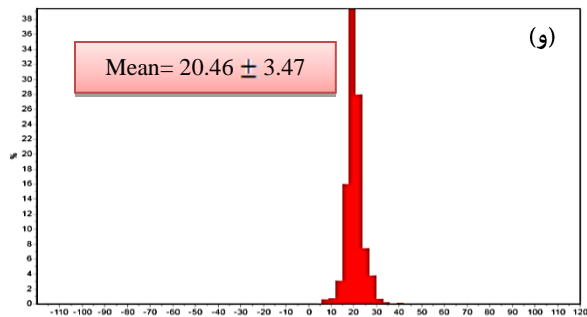
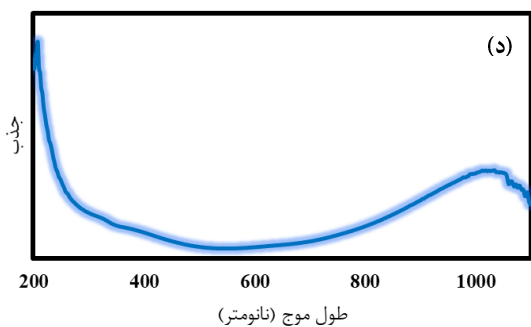
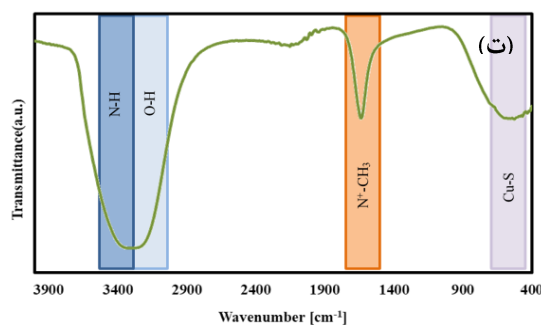
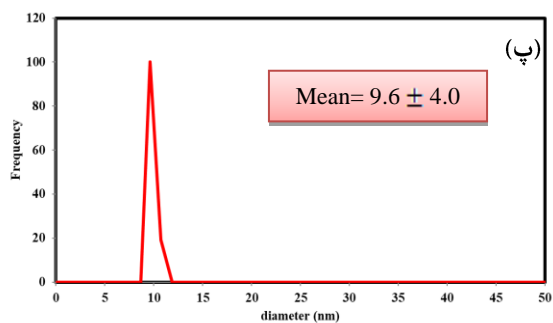
شکل 4- الف الگوی پراش پرتو ایکس نانوذرات سولفیدمس را نشان می‌دهد که با استفاده از مس کلرید 3 آبه به‌عنوان پیش‌ساز مس و سدیم سولفید 9 آبه به‌عنوان منبع گوگرد سنتز شده است. الگوی پراش مشاهده‌شده با الگوی پراش استاندارد سولفیدمس با شماره کارت JCPDS (مرکز بین‌المللی داده‌های پراش، کمیته مشترک استانداردهای پراش پودر) 96-900-0524 مطابقت دارد. قله‌های $2\theta = 27.35$ درجه، 29.27 درجه، 31.67 درجه، 32.53 درجه، 48.01 درجه، 52.74 درجه و 59.14 درجه، به (101)، (102)، (103)، (006)، (110)، (108)، و (116) به ساختار شش ضلعی کولیت سولفیدمس اختصاص داده شد. این قله‌ها به خوبی با گزارش‌های دیگر مطابقت دارند [18-20].

تصاویر نانوذرات سولفیدمس حاصل از دستگاه میکروسکوپ الکترونی در شکل 4-ب آمده است. همان‌گونه که در شکل نیز قابل

² Polydispersity index

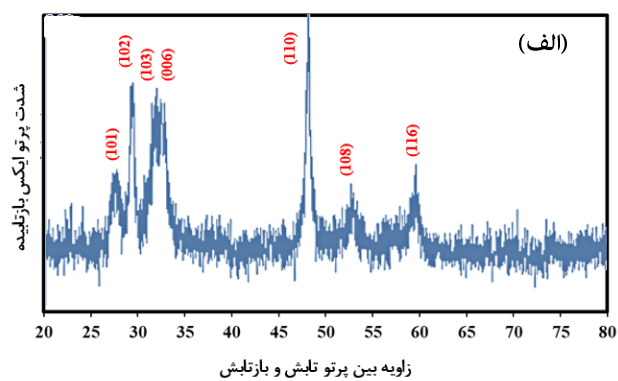
¹ Anthracene

بررسی اثر محیط (نسبت آب-اتانول) در طیف جذب آنتراسن جهت استفاده در نورپویا درمانی با استفاده از نانوذرات سولفیدمس

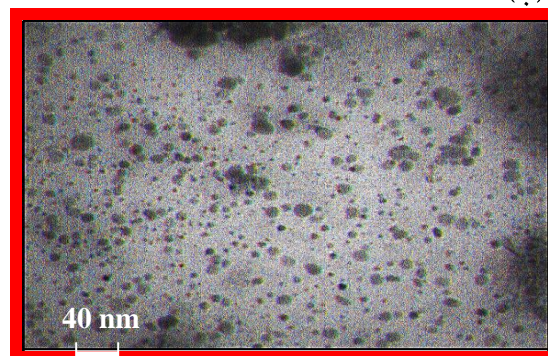


شکل 4- الف) الگوی پراش پرتو ایکس، ب) تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری، پ) تصویر آنالیز پراکندگی لیزر دینامیک یا تفرق نور پویا، ت) آنالیز طیف سنج مادون قرمز، د) تصویر طیف سنج نوری مرئی-ماوراء بنفش و و) اندازه گیری پتانسیل زتا از نانوذرات سولفیدمس با پوشش هگزادسیل تری متیل آمونیوم برومید.

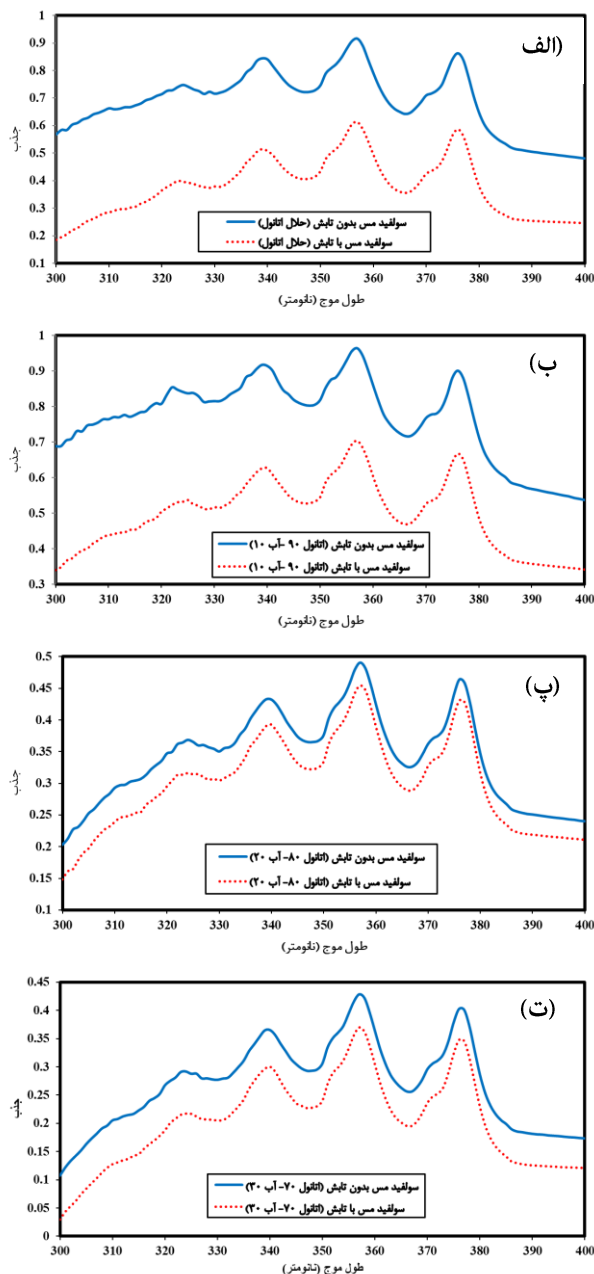
نانومتر نشان می دهد [17,33]. این پتانسیل گسترده نانوذرات سولفیدمس را برای استفاده در درمان سرطان به روش نوردرمانی (مانند نورپویادرمانی و نورگرمادرمانی) با لیزر 808 تضمین می کند. اندازه گیری های پتانسیل زتا برای تأیید تغییرات سطحی نانوذرات سولفیدمس استفاده شد. همان طور که در شکل 4- و مشاهده می شود، اندازه گیری پتانسیل زتا نانوذرات سولفیدمس با پوشش هگزادسیل تری متیل آمونیوم برومید بار مثبت 20.46 ± 3.47 میلی ولت را نشان داد. در واقع، دلیل این بار مثبت وجود هگزادسیل تری متیل آمونیوم برومید است. که نشان می دهد که هگزادسیل تری متیل آمونیوم برومید با موفقیت روی سولفیدمس تثبیت شده است.



(ب)



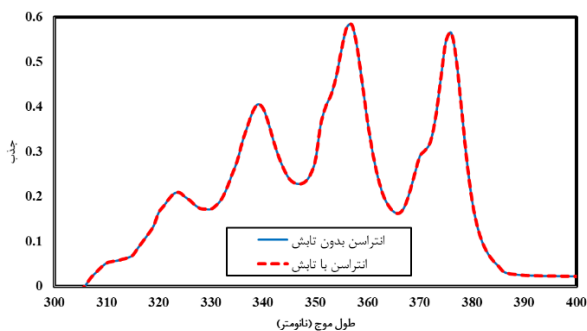
می‌یابد تا جایی که وقتی از نسبت برابر آب و اتانول استفاده کردیم قله انتراسن به‌طور کامل محو شد. در نتیجه همان حلال اتانول به‌منظور بازدهی بیشتر انتخاب و مورد استفاده قرار گرفت.



بررسی اثر محیط (نسبت آب - اتانول) در آشکارسازی اکسیژن یکتایی

همان‌گونه که در بخش 2-4 ذکر شد به دلیل اینکه اکسیژن‌های یکتایی نیمه‌عمرهای بسیار کوتاهی دارند از روش‌های جایگزینی برای آشکارسازی اکسیژن یکتایی استفاده می‌شود. در این مطالعه توانایی تولید اکسیژن یکتایی ترکیبات نیز با یک روش شیمیایی اندازه‌گیری شد. آنتراسن به‌عنوان پروپ حسگر مورد استفاده قرار گرفت، که در آن جذب آنتراسن (357 نانومتر) به‌طور معکوس متناسب با مقدار اکسیژن یکتایی بود.

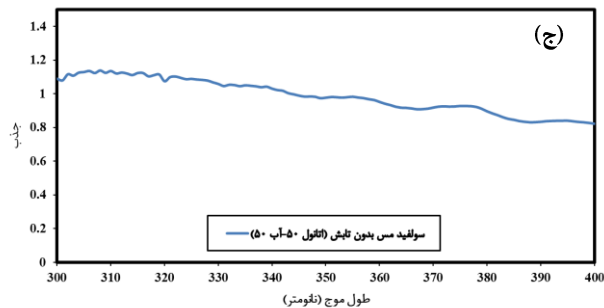
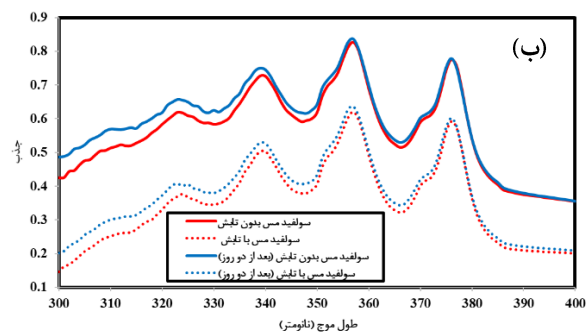
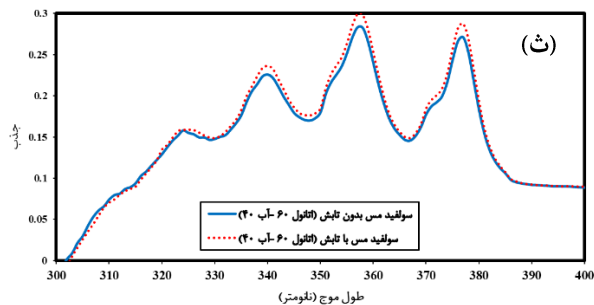
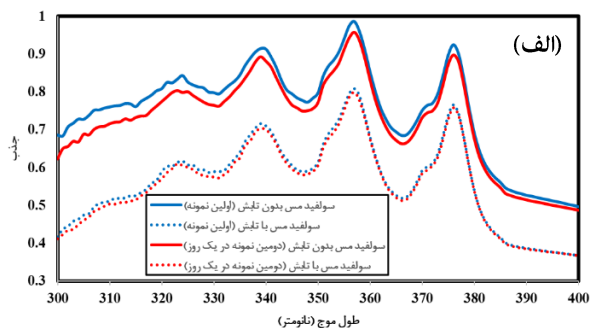
در ابتدا طیف جذب آنتراسن قبل و بعد از تابش لیزر 808 نانومتر مورد بررسی و تحلیل قرار گرفت و هیچ کاهشی نشان نداد که این تایید می‌کند که کاهش دیده‌شده ناشی از تولید اکسیژن یگانه نانوذرات مورد استفاده می‌باشد (شکل 5).



شکل 5- تغییرات جذب آنتراسن در 357 نانومتر تحت تابش لیزر 808 نانومتر با توان 1 وات بر سانتیمتر مربع به مدت 10 دقیقه.

تولید اکسیژن یکتایی از هرکدام از این حلال آب و اتانول با نسبت‌های متفاوت (0-100، 10-90، 20-80، 30-70، 40-60 و 50-50) در شرایط تابش یکسان (لیزر 808-توان 1 وات بر سانتی‌متر مربع - 10 دقیقه) مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل 6-الف تا ج). نتایج نشان داد که افزایش نسبت آب در حلال آب و اتانول می‌تواند بر توانایی تولید اکسیژن یکتایی تاثیر بگذارد و بازده تولید اکسیژن یکتایی کاهش می‌یابد که این به دلیل کاهش حلالیت آنتراسن در آب است. در واقع با افزایش مقدار آب در حلال آب و اتانول، آنتراسن کمتر حل شده و در نتیجه بازده تولید اکسیژن یکتایی کاهش

بررسی اثر محیط (نسبت آب-اتانول) در طیف جذب آنتراسن جهت استفاده در نورپویا درمانی با استفاده از نانوذرات سولفیدمس



شکل 6- بررسی حلال آب و اتانول با نسبت الف) 0-100، ب) 10-90، پ) 20-80، ت) 30-70، ث) 40-60، ج) 50-50 سنجش اکسیژن یکتایی سولفیدمس تحت تابش لیزر 808 نانومتر با توان 1 وات بر سانتیمتر مربع به مدت 10 دقیقه.

شکل 7- تست تکرارپذیری و پایداری سنجش اکسیژن یکتایی در الف) بدون بازه زمانی مابین دو حالت اول و دوم ب) با فاصله زمانی 48 ساعته مابین دو نمونه اول و دوم و با شرایط تابش یکسان.

نتیجه گیری

در این پژوهش هدف سنتز نانوذرات سولفیدمس و بررسی پتانسیل آنها در روش نورپویادرمانی است. با توجه به مطالعات صورت گرفته برای سنتز نانومواد، از میان روش‌های موجود روش‌هایی انتخاب و مورد استفاده قرار گرفتند که علاوه بر مواد ارزانتر و آسان بودن روش سنتز آنها، نیاز به تجهیزات گران‌قیمتی ندارند و مواد با خلوص بالایی بدست می‌آیند. تجزیه و تحلیل خصوصیات ساختاری و ویژگی‌های نوری نانوذرات نشان داد که نانوذرات سولفیدمس با اندازه تقریبی 10 نانومتر با موفقیت سنتز شدند. مهمترین عامل بررسی در نورپویادرمانی سنجش میزان تولید اکسیژن یکتایی است. علاوه بر این پتانسیل تولید اکسیژن یکتایی برای این نانوذره در حلال‌های متفاوت نیز مورد بررسی و تحقیق قرار گرفت و بهترین حلال انتخاب و مورد استفاده قرار گرفت. نتایج طیف جذب آنتراسن در محیط آبی - اتانول

به منظور تکرارپذیری نتایج، تولید اکسیژن یکتایی برای نمونه با تابش بدون تابش سولفیدمس مورد بررسی قرار گرفت. در این مرحله تولید اکسیژن یکتایی سولفیدمس مورد ارزیابی قرار گرفت و مجدداً همان مراحل برای تعیین تکرارپذیری و پایداری در 4 ساعت (شکل 7-الف) و 48 ساعت (شکل 7-ب) تکرار شد. همان‌طور که در شکل 7 نشان داده شده است هر دو تکرارپذیری جواب یکسانی را نشان دادند یا به عبارت دیگر این سنجش از تکرارپذیری و پایداری خوبی برخوردار است.

پیشنهادات پژوهشی

پیشنهاد می‌شود که استفاده از منابع نوری متفاوت مانند لیزرهای سبز و قرمز و لامپهای دیود، مدت زمان تابش متفاوت و همچنین توان‌های متفاوت تابش مورد بررسی قرار بگیرد. علاوه بر این می‌توان آزمایشات سمیت سلولی مختلف مانند MTT و آنالیزهای درون تلی در کنار آنالیزهای آزمایشگاهی مورد ارزیابی و بررسی قرار بگیرد.

سپاس و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب قدردانی صمیمانه خود را از تمام افرادی که ما را در انجام این پژوهش یاری کرده‌اند اعلام می‌دارند.

نشان می‌دهد که با افزایش نسبت آب به اتانول قدرت تشخیص پروب آنتراسن در شناسایی اکسیژن‌های یکتایی کاهش می‌یابد که می‌تواند به دلیل حلالیت آنتراسن در محیط آبی باشد. با توجه به بررسی‌های انجام‌شده حلال اتانول به عنوان حلال بهینه انتخاب و مورد استفاده قرار گرفت. همچنین نتایج تکرارپذیری و پایداری استفاده از پروب آنتراسن در زمان‌های متفاوت نشان دادند که این روند با تکرارپذیری و پایداری خوبی همراه است و گذشت زمان تاثیری در حساسیت پروب آنتراسن در تشخیص اکسیژن‌های یکتایی ندارد. نتایج کاهش قابل توجهی در جذب آنتراسن نانوذرات سولفیدمس سنتز شده در معرض تابش لیزر 808 به مدت 10 دقیقه نشان داد که نشان‌دهنده تولید اکسیژن یکتایی است. بنابراین نانوذرات سولفیدمس می‌توانند به‌عنوان ماده حساس به نور زیست‌سازگار و قدرتمند برای درمان نورپویا کارآمد مورد استفاده قرار بگیرند.

References:

- 1- A. M. Itoo, M. Paul, S. G. Padaga, B. Ghosh, and S. Biswas, "Nanotherapeutic Intervention in Photodynamic Therapy for Cancer," ACS Omega, 2022, doi: 10.1021/acsomega.2c05852.
- 2- V. M.-M. Ruth Prieto-Montero, Teresa Arbeloa, "Photosensitizer-Mesoporous Silica Nanoparticles Combination for Enhanced Photodynamic Therapy," Photochem. Photobiol., 2023, doi: https://doi.org/10.1111/php.13802.
- 3- J. Zhao, L. Duan, A. Wang, J. Fei, and J. Li, "Insight into the efficiency of oxygen introduced photodynamic therapy (PDT) and deep PDT against cancers with various assembled nanocarriers," WIREs NANOMEDICINE AND NANOBIO TECHNOLOGY, no. July, pp. 1–20, 2019, doi: 10.1002/wnan.1583.
- 4- X. H. Shumeng Li , Fujun Yang , Yongdan Wang , Tianqi Du, "Emerging nanotherapeutics for facilitating photodynamic therapy," Chem. Eng. J., 2023, doi: https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.138621.
- 5- G. Gunaydin, M. E. Gedik, and S. Ayan, "Photodynamic Therapy — Current Limitations and Novel Approaches," Front. Chem., vol. 9, no. June, pp. 1–25, 2021, doi: 10.3389/fchem.2021.691697.
- [6] A. Escudero, C. Carrillo-Carrión, M. C. Castillejos, E. Romero-Ben, C. Rosales-Barrios, and N. Khiar, "Photodynamic therapy: Photosensitizers and nanostructures," Mater. Chem. Front., vol. 5, no. 10, pp. 3788–3812, 2021, doi: 10.1039/d0qm00922a.
- 7- T. Q. C. and V. S. B. by Fernanda Alves , Mirian D. Stringasci , Michelle B. Requena, Kate C. Blanco, Lucas D. Dias, "Randomized and Controlled Clinical Studies on Antibacterial Photodynamic Therapy: An Overview," Photonics, 2022, doi: https://doi.org/10.3390/photonics9050340.
- 8- J. M. Dąbrowski, "Reactive Oxygen Species in Photodynamic Therapy: Mechanisms of Their Generation and Potentiation," Adv. Inorg. Chem., vol. 70, pp. 343–394, 2017, doi: 10.1016/bs.adioch.2017.03.002.
- 9- J. J. Hu, Q. Lei, and X. Z. Zhang, "Recent advances in photonanomedicines for enhanced cancer photodynamic therapy," Prog. Mater. Sci., vol. 114, no. April, p. 100685, 2020, doi: 10.1016/j.pmatsci.2020.100685.
- 10- Q. You et al., "A single-light triggered and dual-imaging guided multifunctional platform for combined photothermal and photodynamic therapy based on TD-controlled and ICG-loaded CuS@mSiO₂," Nanoscale, 2016, doi: 10.1039/C6NR09042G.
- 11- C. A. P. Muhammed Awad, Nicky Thomas, Timothy J. Barnes, "Nanomaterials enabling clinical translation of antimicrobial photodynamic therapy," J. Control. Release, 2022, doi: https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.04.035.
- 12- A. G. Niculescu and A. M. Grumezescu, "Photodynamic therapy—an up-to-date review," Appl. Sci., vol. 11, no. 8, pp. 1–18, 2021, doi: 10.3390/app11083626.
- 13- M. Roeinfard, M. Zahedifar, M. Darroudi, A. KhorsandZak, and E. Sadeghi, "Preparation and characterization of selenium-decorated graphene quantum dots with high afterglow for application in photodynamic therapy," Luminescence, 2020, doi: 10.1002/bio.3798.
- 14- M. Zahedifar, E. Sadeghi, M. M. Shanei, A. Sazgarnia, and M. Mehrabi, "Afterglow properties of CaF₂:Tm nanoparticles and its potential application in photodynamic therapy," Luminescence, 2015, doi: 10.1016/j.jlumin.2015.11.043.
- 15- M. Roeinfard, M. Zahedifar, M. Darroudi, A. KhorsandZak, and E. Sadeghi, "Synthesis of Graphene Quantum Dots Decorated With Se, Eu and Ag As Photosensitizer and Study of Their Potential to Use in Photodynamic Therapy," Fluorescence, 2020, doi: 10.1007/s10895-020-02674-0.
- 16- Q. Xiao et al., "A core/satellite multifunctional nanotheranostic for in vivo imaging and tumor eradication by radiation/photothermal synergistic therapy," J. Am. Chem. Soc., 2013, doi: DOI: 10.1021/ja404985w.
- 17- F. Chen et al., "In Vivo Tumor Vasculature Targeting of CuS@MSN Based Theranostic Nanomedicine," ARTICLE, 2015, doi: 10.1021/nn507241v.
- 18- M. Saranya and A. N. Grace, "Hydrothermal synthesis of CuS nanostructures with different morphology," J. Nano Res., vol. 18–19, pp. 43–51, 2012, doi: 10.4028/www.scientific.net/JNanoR.18-19.43.

- 19- K. Krishnamoorthy, G. K. Veerasubramani, A. N. Rao, and S. J. Kim, "One-pot hydrothermal synthesis, characterization and electrochemical properties of CuS nanoparticles towards supercapacitor applications," *Mater. Res. Express*, vol. 1, no. 3, 2014, doi: 10.1088/2053-1591/1/3/035006.
- 20- J. Zhao, G. Yang, Y. Zhang, S. Zhang, and P. Zhang, "A Simple Preparation of HDA-CuS Nanoparticles and Their Tribological Properties as a Water-Based Lubrication Additive," *Tribol. Lett.*, vol. 67, no. 3, 2019, doi: 10.1007/s11249-019-1206-3.
- 21- N. A. Asyiqin Anas, Y. W. Fen, N. A. Yusof, N. A. S. Omar, N. S. Md Ramdzan, and W. M. E. M. Mohd Daniyal, "Investigating the properties of cetyltrimethylammonium bromide/hydroxylated graphene quantum dots thin film for potential optical detection of heavy metal ions," *Materials (Basel)*, vol. 13, no. 11, 2020, doi: 10.3390/ma13112591.
- 22- S. Rajeshkumar et al., "Evaluation of Zebrafish Toxicology and Biomedical Potential of *Aeromonas hydrophila* Mediated Copper Sulfide Nanoparticles," *Oxid. Med. Cell. Longev.*, vol. 2022, 2022, doi: 10.1155/2022/7969825.
- 23- F. A. Sabah, I. Abdul Razak, E. A. Kabaa, M. F. Zaini, and A. F. Omar, "Influence of CuS powder concentration on the construction of hybrid PVA/CuS thin films for polymer light-emitting applications," *J. Mater. Sci. Mater. Electron.*, vol. 31, no. 4, pp. 3456–3465, 2020, doi: 10.1007/s10854-020-02893-y.
- 24- N. S. Tank, K. D. Parikh, and M. J. Joshi, "Synthesis and characterization of copper sulphide (CuS) nano particles," *AIP Conf. Proc.*, vol. 1837, 2017, doi: 10.1063/1.4982102.
- 25- L. Chen, J. Chen, H. Zhou, L. Liu, and H. Wan, "The use of CTAB to control the size of N,N-dioctyldithiocarbamates monolayer-stabilized copper sulfide nanoparticles," *Mater. Lett.*, vol. 61, no. 10, pp. 1974–1977, 2007, doi: 10.1016/j.matlet.2006.07.169.
- 26- L. Han, H. Li, Y. Lei, and D. Cao, "Preparation and transparent heat insulating properties of aqueous acrylic–amino–alkyd coatings with CuS nanoplates," *J. Mater. Sci. Mater. Electron.*, vol. 28, no. 19, pp. 14596–14604, 2017, doi: 10.1007/s10854-017-7324-5.
- 27- N. Nasseh, & Fatemeh, S. Arghavan, N. Daglioglu, and A. Asadi, "Fabrication of novel magnetic CuS/Fe₃O₄/GO nanocomposite for organic pollutant degradation under visible light irradiation," pp. 19222–19233, 2066, [Online]. Available: <https://doi.org/10.1007/s11356-020-12066-3>.
- 28- S. Riyaz, A. Parveen, and A. Azam, "Microstructural and optical properties of CuS nanoparticles prepared by sol–gel route," *Perspect. Sci.*, vol. 8, pp. 632–635, 2016, doi: 10.1016/j.pisc.2016.06.041.
- 29- C. F. Mu, Q. Z. Yao, X. F. Qu, G. T. Zhou, M. L. Li, and S. Q. Fu, "Controlled synthesis of various hierarchical nanostructures of copper sulfide by a facile microwave irradiation method," *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 371, no. 1–3, pp. 14–21, 2010, doi: 10.1016/j.colsurfa.2010.08.049.
- 30- S. Iqbal et al., "Extensive evaluation of changes in structural, chemical and thermal properties of copper sulfide nanoparticles at different calcination temperature," *J. Cryst. Growth*, vol. 547, no. July, p. 125823, 2020, doi: 10.1016/j.jcrysgro.2020.125823.
- 31- X. Wen and H. Zhang, "Photoelectrochemical properties of CuS/GeO₂-TiO₂ composite coating electrode," *PLoS One*, vol. 11, no. 4, pp. 1–12, 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0152862.
- 32- L. Liang et al., "Biocompatible tumor-targeting nanocomposites based on CuS for tumor imaging and photothermal therapy," *RSC Adv.*, vol. 8, no. 11, pp. 6013–6026, 2018, doi: 10.1039/c7ra12796k.
- 33- S. I. Raj, A. Jaiswal, and I. Uddin, "Ultrasmall aqueous starch-capped CuS quantum dots with tunable localized surface plasmon resonance and composition for the selective and sensitive detection of mercury(ii) ions," *RSC Adv.*, vol. 10, no. 24, pp. 14050–14059, 2020, doi: 10.1039/c9ra09306k.