

Review Article

Introduction, synthesis procedures, and applications of organic-inorganic hybrid nanoflowers in biosciences

Khashayar Vojdanitalab¹, Mina Saeedi^{2*}, Mohammad Ali Faramarzi³, Somayeh Mojtavavi^{3*}

ABSTRACT

Organic-inorganic hybrid nanoflowers with flower-like morphology are new nanostructures comprising organic and inorganic components. In general, the organic component of hybrid nanoflowers mostly consists of proteins, DNA, RNA, plant extracts, metabolites, and natural polymers; and the inorganic component composes of various metal phosphates, including copper, calcium, manganese, iron, zinc, cobalt, cadmium, aluminum, silver, gold, etc. Until now, five notable procedures have been introduced for their synthesis, including biomineralization, ultra-fast sonication, the two-step method, shear stress, and the concentrated method. These nanostructures have many promising applications in diverse fields, such as the immobilization of enzymes and biomolecules, bio-catalysis of chemical reactions, bioremediation, electrochemical biosensors, drug and gene carriers, diagnosis of various diseases, photothermal therapy, etc. and wide range of research has been performed on them in the last recent decade.

Google Scholar, Scopus, ScienceDirect, and Springer databases were searched using the keywords hybrid nanostructure, nanoflower, biosciences, and biocatalyst to find related articles.

Studying these organic-inorganic hybrid nanocrystals may lead to finding new creative solutions in the effective application of enzyme-based systems, the rapid development of bionanomaterials, and biotechnology industries. The present review has investigated the different types of hybrid nanoflowers, their synthesis procedures and structural characteristics, and their applications in biosciences.

Keywords: Biocatalysts, Biosciences, Hybrid compound, Nanostructures



Citation: Vojdanitalab KH, Saeedi M, Faramarzi MA, Mojtavavi S. [Introduction, synthesis procedures, and applications of organic-inorganic hybrid nanoflowers in biosciences]. J Birjand Univ Med Sci. 2023; 30(1): 5-32. [Persian]

DOI 10.61186/JBUMS.30.1.5

Received: January 25, 2023

Accepted: June 17, 2023

¹ PharmD, Department of Pharmaceutical Biotechnology, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences Tehran, Iran

² Medicinal Plants Research Center, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³ Department of Pharmaceutical Biotechnology, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*Corresponding author:.

Tel: +989151522504

Fax: +982166954712

E-mail: smojtabavi@tums.ac.ir

معرفی، روش‌های ساخت و کاربرد نانوفلورهای هیبریدی آلی-غیرآلی در علوم زیستی

خشیار وجدانی طلب^۱، مینا سعیدی^۲، محمدعلی فرامرزی^۳، سمیه مجتبوی^{۲*}

چکیده

نانوفلورهای هیبریدی آلی-غیرآلی با شکل فضایی شبه گُل، نانوساختارهای جدیدی هستند که از دو جزء آلی و غیرآلی تشکیل می‌شوند. به‌طور کلی، جزء آلی نانوفلورهای هیبریدی عموماً از پروتئین‌ها، DNA، RNA، عصاره‌ها و متابولیت‌های گیاهی و پلیمرهای طبیعی و جزء غیرآلی از فسفات فلزات مختلف از قبیل مس، کلسیم، منگنز، آهن، روی، کبالت، کادمیم، آلومینیوم، نقره، طلا و غیره می‌باشد. تاکنون ۵ روش حائز توجه برای تهیه آن‌ها شامل مینرالیزاسیون زیستی، سونیکاسیون سریع، روش دومرحله‌ای، تنش برشی و روش تغلیظ کردن معرفی شده‌است. این نانوساختارها به کاربردهای نویدبخش متعددی در حیطه‌هایی از قبیل تثبیت آنزیم‌ها و مولکول‌های زیستی، کاتالیز زیستی واکنش‌های شیمیایی، زیست پالایی، حسگرهای زیستی الکتروشیمیایی، حامل‌های دارو و ژن، تشخیص بیماری‌های مختلف، نورگرمادرمانی و غیره دست‌یافته‌اند و در یک دهه اخیر تحقیقات زیادی پیرامون آن‌ها انجام گرفته است.

پایگاه‌های اطلاعاتی شامل ScienceDirect، Scopus، Google Scholar و Springer با استفاده از واژه‌های کلیدی نانوساختار هیبریدی، نانوفلور، علوم زیستی و کاتالیزور زیستی برای یافتن مقالات مرتبط مورد جستجو قرار گرفت. مطالعه این نانوکریستال‌های هیبریدی آلی-غیرآلی ممکن است به ایجاد راه‌حل‌های خلاقانه جدیدی در زمینه‌های به‌کارگیری مؤثر سیستم‌های آنزیمی، توسعه سریع نانومواد زیستی و صنایع بیوتکنولوژی منجر شود. مقاله مروری حاضر، انواع مختلف نانوفلورهای هیبریدی، روش‌های ساخت، ویژگی‌های ساختاری و همچنین کاربردهای آن‌ها در علوم زیستی مورد بررسی قرار داده‌است.

واژه‌های کلیدی: کاتالیزور زیستی، علوم زیستی، نانوفلورهای هیبریدی آلی-غیرآلی؛ نانوساختارها

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۲؛ ۳۰ (۱): ۳۲-۵.

دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۰۵ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۲۷

^۱ داروساز، گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

^۲ مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

^۳ گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

* نویسنده مسئول: گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

آدرس: تهران- دانشگاه علوم پزشکی تهران- دانشکده داروسازی- گروه بیوتکنولوژی دارویی

تلفن: ۰۹۱۵۱۵۲۲۵۰۴ نمایر: ۰۲۱-۶۶۹۵۴۷۱۲ پست الکترونیکی: smojtabavi@tums.ac.ir

مقدمه

در سال‌های اخیر پیشرفت‌های حاصل از علوم و مهندسی مواد منجر به طراحی و ساخت انواع متنوعی از ترکیبات هیبریدی^۱ آلی-غیرآلی با عملکردهای اختصاصی شده‌است. این نوع مواد هیبریدی به دلیل بهره‌مندی از ویژگی‌های هر دو جزء آلی و غیرآلی مورد توجه بسیاری از محققان علوم مختلف قرار گرفته‌اند (۱). نانوفلورهای^۲ متشکل از اجزاء آلی-غیرآلی با ساختارهای شبه گُل، یکی از معروف‌ترین انواع ترکیبات هیبریدی هستند که برای اولین بار و به‌طور تصادفی در سال ۲۰۱۲ تهیه‌شدند (۲). در گذشته نانومواد با ساختارهای شبه گُل، با داشتن نسبت سطح به حجم بالا در مقایسه با نانوذرات کروی مورد توجه بوده‌اند؛ اما به علت شرایط دشوار ساخت آن‌ها از قبیل استفاده از حلال‌های آلی سمی و نیاز به دما و فشار بالا در فرآیند تشکیل به‌طور محدود مطالعه و بررسی می‌شدند (۳). تا یک دهه قبل، هیچ گزارشی مبنی بر ساخت نانوفلورها با استفاده از اجزاء آلی وجود نداشت. در حال حاضر، تهیه نانوفلورهای هیبریدی آلی-غیرآلی عملی و آسان بوده و در مطالعات انجام شده اخیر، ۵ روش برای ساخت آن‌ها شامل مینرالیزاسیون زیستی^۳، سونیکاسیون سریع^۴، روش دومرحله‌ای، تنش برشی و روش تغلیظ کردن معرفی شده‌است (۴). در بیشتر پژوهش‌ها تا به امروز از آنزیم‌ها به عنوان جزء آلی در تشکیل این نوع از ساختارهای هیبریدی استفاده شده (۵) و در اهداف مختلفی مانند کاتالیز واکنش‌ها، تهیه حسگرهای زیستی، اهداف زیست پزشکی و روندهایی که در آن جذب سطحی بالا مورد نیاز است، به کار رفته‌اند. همچنین، حضور آنزیم به عنوان جزء آلی در نانوفلورهای هیبریدی^۵ (HNFs) سبب بهبود فعالیت، پایداری و قابلیت استفاده مجدد^۶ کاتالیزور زیستی تهیه شده در مقایسه با آنزیم آزاد می‌شود (۶). نانوفلورهای هیبریدی براساس یون فلزی و اجزاء آلی مورد استفاده در روند ساخت، به انواع مختلفی طبقه‌بندی می‌شوند. جزء غیرآلی

ساختار نانوفلورهای هیبریدی به‌طور کلی از نمک فسفات فلزاتی مانند مس، کلسیم، منگنز، آهن، روی، کبالت و کادمیم تشکیل می‌شوند (۷). همچنین از پروتئین‌ها، عصاره‌ها و متابولیت‌های گیاهی، پلیمرهای طبیعی، DNA، RNA به عنوان جزء آلی در تشکیل این ساختارهای هیبریدی استفاده شده‌است (۸). مکانسیم تشکیل نانوفلورهای هیبریدی، ایجاد پیوند کوئوردینانسی^۷ بین یون‌های فلزی جزء غیرآلی با اتم نیتروژن موجود در قسمت آلی در نظر گرفته می‌شود که شامل ۳ مرحله هسته‌زایی و تشکیل کریستال‌های اولیه، رشد کریستال‌ها و تشکیل نانوفلورها است (۹) و در شکل یک قابل مشاهده می‌باشد. نانوفلورهای هیبریدی آلی-غیرآلی به‌طور گسترده در تثبیت آنزیم‌ها و مولکول‌های زیستی، طراحی حسگرهای زیستی، کاتالیزورهای زیستی، زیست پالایی، سنجش زیستی و غیره مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱۰). در مقاله مروری حاضر، انواع نانوفلورهای هیبریدی آلی-غیرآلی، روش‌های ساخت و نیز کاربردهای مختلف آن‌ها در علوم زیستی بررسی می‌شود.

انواع نانوفلورهای هیبریدی

نانوفلورهای هیبریدی بر اساس نوع یون فلزی (مس، کلسیم، منگنز، آهن، روی، کبالت، کادمیم، آلومینیوم، نقره، طلا و غیره) و جزء آلی (پروتئین‌ها، DNA، RNA، اسید آمینه، عصاره‌ها و متابولیت‌های گیاهی و پلیمرهای طبیعی) در ساختار شیمیایی آن‌ها دسته بندی می‌شوند. انواع نانوفلورهای هیبریدی ساخته‌شده با فلزات و اجزاء آلی مختلف به همراه برخی از کاربردهای آن‌ها در جدول یک قابل مشاهده است.

¹ Hybrid compounds² Nanoflowers³ Biomineralization⁴ Sonication⁵ Hybrid nanoflowers (HNFs)⁶ Reusability⁷ Coordinate

جدول ۱- انواع نانوفلورهای هیبریدی سنتز شده با فلزات و اجزاء آلی مختلف به همراه برخی از کاربردهای آن‌ها.

یون فلزی	جزء آلی	مولکول هدف	افزایش فعالیت زیستی جزء آلی (درصد)	کاربردها در علوم زیستی	منبع
مس	لکاز	ABTS	۳۵۰	سنتز ترکیب آنتی اکسیدانت وینفرین	۱۱
	گلوکز اکسیداز	گلوکز	-	سیستم‌های تشخیصی بالینی	۱۲
	لیپاز	اسیدهای چرب	۹۵	تولید بیودیزل	۱۳
	پاپاین	BAEE	۷۲۶۰	بهینه‌سازی سنتز نانوفلورهای هیبریدی	۱۴
	تریپسین	BAEE	۲۷۰	هضم پروتئوم	۱۵
	کاتالاز	پراکسید هیدروژن	-	شناسایی پراکسید هیدروژن در سرم انسانی	۱۶
	پراکسیداز ترب کوهی	OPD	۵۰۶	حسگرهای زیستی	۱۷
	اوره آز	معرف نسلر	۴۰۰۰	زیست پزشکی و شیمی	۱۸
	سیتوکروم p450	تیانیزول	۹۷/۶	اکسیداسیون انتخابی سولفیدها و سنتزهای شیمیایی	۱۹
کلسیم	گلوکوامیلاز	مالتودکسترین	۲۰۴	فرآیند مایع‌سازی اولیگوساکاریدها	۸
	کربونیک انیدراز	دی اکسید کربن	۲۶۰	جذب کربن و حسگرهای زیستی	۲
	آسپارژین	ABTS	۴۹	حذف ترکیبات آلی سمی	۸۲
	پلی دوپامین	TMB	-	حسگرهای زیستی، کاربرد بالینی و طراحی ترکیبات ضد میکروبی	۸۳
	عصاره چای سبز	استافیلوکوکوس اورئوس	-	افزایش اثرات ضد میکروبی	۵۴
	سریسین	یون‌های جیوه، سرب و کادمیم	-	حذف آلاینده‌ها از آب	۲۱
	آلفا-آمیلاز	۲-کلرو-۴-نیترو فنیل مالتوتریوسید	-	کاتالیزور زیستی با اثر آلوستریک	۲۰
	لیپاز	پارا-نیترو فنیل پالمیتات	-	افزایش پایداری و قابلیت استفاده مجدد	۲۲
	ایمونوگلوبین G	راکتوپامین	-	حسگرهای زیستی	۲۳
آهن	آلبومین سرم گاو	متانول	-	سیستم‌های کاتالیزوری	۲۴
	گلوکز اکسیداز	گلوکز	-	شناسایی گلوکز	۲۶
	پراکسیداز	گایاکول	۷۱۰	افزایش فعالیت و پایداری آنزیمی	۲۷
	لیپاز	پارا-نیترو فنیل پالمیتات	۸۰	افزایش فعالیت و پایداری آنزیمی	۲۸
	پاپاین	کازئین	-	افزایش پایداری در برابر pH و دما	۲۹
	لیپاز	پارا-نیترو فنیل پالمیتات	۱۴۷	بهبود پایداری	۳۰
	لکاز	ABTS	۱۱۳	حذف زیستی موکسی فلوکسازین	۴۴
	دی-سیکوز-۳-پیمراز	فروکتوز	۸۶	کاتالیز زیستی صنعتی و حسگرهای زیستی	۳۲
	کلروپراکسیداز	کریستال ویوله	-	تصفیه رنگ‌های آلی محلول در فاضلاب-های صنعتی	۳۳
آلومینیوم	لیپاز	پارا-نیترو فنیل پالمیتات	-	بهبود پایداری دمایی و قابلیت استفاده مجدد	۳۴
	لیپاز	پارا-نیترو فنیل پالمیتات	۸۰	افزایش فعالیت و پایداری آنزیمی	۲۸
	لیپاز	پارا-نیترو فنیل پالمیتات	۸۰	افزایش فعالیت و پایداری آنزیمی	۲۸
	نقره				
	طلا				

ABTS, 2, 2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid); BAEE, N- α -Benzoyl-L-arginine ethyl ester; OPD, o-Phenylenediamine; TMB, 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine.

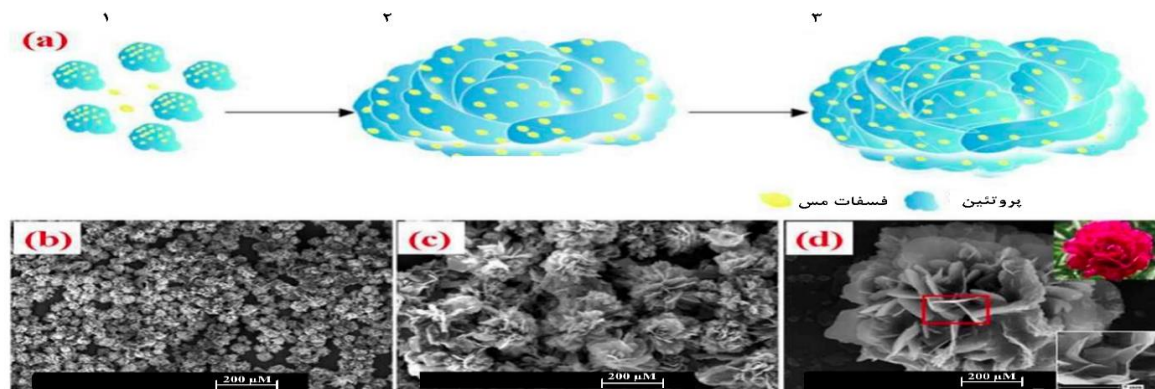
نانوفلورهای هیبریدی مس

نگاهی به مطالعات پیشین نشان می‌دهد که بسیاری از محققین به منظور تثبیت آنزیم‌ها در ساختارهای هیبریدی از یون‌های مس بهره‌گرفته‌اند. تاکنون آنزیم‌هایی مانند لکاز (۱۱)، گلوگز اکسیداز (۱۲)، لیپاز (۱۳)، پاپاین (۱۴)، تریپسین (۱۵)، کاتالاز (۱۶)، پراکسیداز ترب کوهی^۱ (۱۷)، اوره آز (۱۸) و سیتوکروم p450 (۱۹) به کمک نانوفلورهای هیبریدی فسفات مس تثبیت شده‌اند. این نانوفلورها باعث افزایش فعالیت و پایداری آنزیم تثبیت شده نسبت به آنزیم آزاد می‌شوند. برای مثال، در تثبیت گلوکوامیلاز، کربونیک انیدراز و اوره آز توسط نانوفلورهای هیبریدی فسفات مس فعالیت این آنزیم‌ها به ترتیب در حدود ۲۰۴، ۲۶۰ و ۴۰۰۰ درصد افزایش پیدا کرده‌است (۸). این افزایش فعالیت به دلیل نسبت سطح به حجم بالای نانوفلورهای هیبریدی، کاهش محدودیت انتقال جرم و اثر تعامل مولکول‌های آنزیم تثبیت شده در ابعاد نانو است. همچنین حضور یون‌های مس در میکرومحیط نانوفلورها می‌تواند سبب ایجاد فعل و انفعالاتی بین آنزیم و این نوع از نانوفلورها شود که در نهایت عملکرد جزء آلی بهبود پیدا کند (۲). به عنوان مثال، فعالیت آنزیم لکاز که در ساختار خود دارای اتم مس است در حضور نانوفلورهای هیبریدی متشکل از مس به دلیل وجود یون‌های مس در میکرومحیط این آنزیم برای ساخت ترکیبی آنتی‌اکسیدانت تحت عنوان وینفرین^۲ افزایش پیدا کرده‌است (۱۱). با این حال گاهی یون‌های مس موجود در ساختار نانوفلورهای هیبریدی می‌توانند به عنوان مهارکننده آنزیم و یا پروتئین موجود در ساختار باشند. به‌طور مثال آنزیم‌های ال-آرآینوز ایزومراز به شدت به حضور یون مس در محیط حساس بوده و فعالیت خود را از دست می‌دهد؛ به طوری که افزایش مس موجود در نانوفلورهای هیبریدی به ۱۰ میلی‌مولار منجر به کاهش ۱۰ درصدی فعالیت آنزیم شده‌است (۲۰).

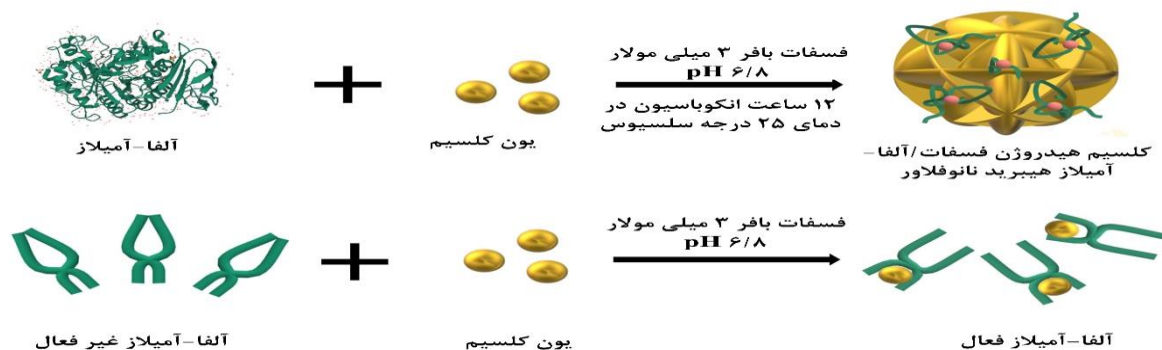
نانوفلورهای هیبریدی کلسیم

به دلیل ویژگی‌ها و همچنین سادگی فرآیند تشکیل نانوفلورهای هیبریدی، مطالعات زیادی بر روی آن‌ها انجام شد و ساخت این ساختارها با استفاده از فسفات سایر فلزات نیز مورد توجه قرار گرفت. یکی از آن فلزات، کلسیم است که با داشتن اثر آلوتریک بر آنزیم‌ها می‌تواند موجب افزایش چشمگیری در فعالیت آن‌ها شود. به‌عنوان مثال، در مطالعه‌ای که آلفا-آمیلاز توسط نانوفلورهای فسفات کلسیم تثبیت شد، فعالیت این آنزیم به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش پیدا کرد. در صورتی که در غیاب یون‌های کلسیم، آلفا-آمیلاز بحالت غیرفعال است (زیرا جایگاه عملکردی آن مهار می‌شود). در مقابل، هنگام تهیه یک نانوفلور هیبریدی بر پایه کلسیم و آلفا-آمیلاز، یون‌های کلسیم به آلفا-آمیلاز متصل می‌شوند و فعالیت طولانی‌تری نسبت به آنزیم آزاد به آن می‌دهند (۲۱). از سایر ترکیبات آلی نیز برای تشکیل نانوفلورهای هیبریدی کلسیم استفاده شده است. به‌عنوان مثال، نانوفلورهای هیبریدی کلسیم با استفاده از سربسین (پروتئین ابریشم) تشکیل شد که به خوبی در جذب سطحی فلزات سنگین و رنگ‌های سمی به‌کار رفت (۲۲). همچنین به‌دام‌اندازی کوثرستین در نانوساختارهای هیبریدی فسفات کلسیم علاوه بر آزادسازی آهسته‌تر این فلاونوئید طبیعی، میزان پایداری آن در دماهای بالا و یا مجاورت با نور را افزایش داد. در همین مطالعه نشان داده شد که بارگذاری کوثرستین در نانوساختارهای هیبریدی فسفات کلسیم باعث افزایش اثرات ضد بیوفیلمی آن در برابر پاتوژن‌های بیماری‌زا شده‌است (۲۳). در سال‌های اخیر نیز با تثبیت آنزیم لیپاز بر ضایعات استخوان‌های باقیمانده از صنایع غذایی و تولید نانوفلورهای هیبریدی فسفات کلسیم، ۹۰ درصد از فعالیت آنزیم پس از ۱۲ بار استفاده پیاپی حفظ گردید (۲۴). حذف ۱۰۰ درصدی فنل و بیس فنل A^۳ پس از استفاده از آنزیم لکاز تثبیت شده در ساختارهای هیبریدی کلسیم فسفات حاصل شد (۲۵).

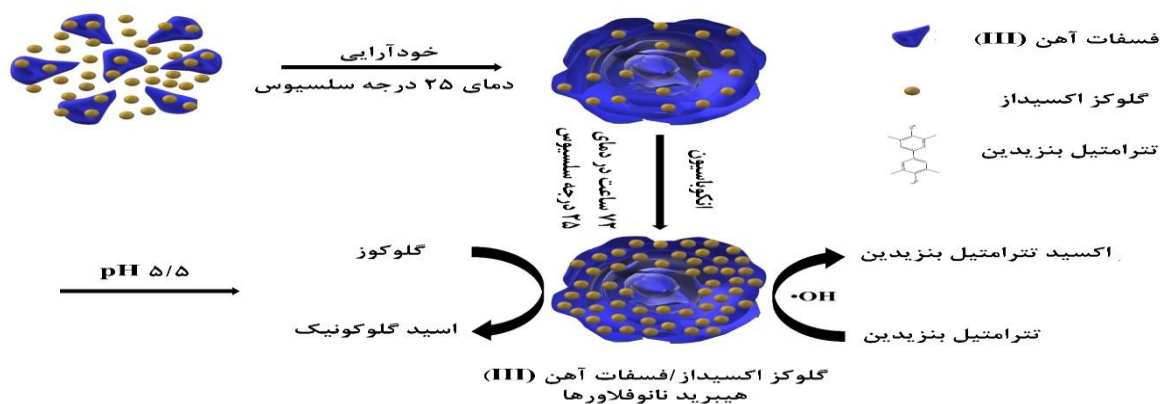
¹ Horseradish peroxidase² Viniferin³ Bisphenol A



شکل ۱- قسمت a مربوط به مراحل تشکیل نانوفلورهای هیبریدی مس که شامل ۳ مرحله هسته‌زایی و تشکیل کریستال‌های اولیه، رشد کریستال‌ها و تشکیل نانوفلورها می‌باشد. قسمت‌های b-d تصاویر به‌دست آمده از میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) از محلول پروتئینی حاوی ۱۲۰ میلی‌مولار یون مس و بافر فسفات با غلظت ۰/۱ مولار در $\text{pH}=4/7$ است. (۶).



شکل ۲- ساخت نانوفلورهای هیبریدی کلسیم با استفاده از آلفا-آمیلاز به عنوان جزء آلی ساختار (۲۰).



شکل ۳- ساخت نانوفلورهای هیبریدی آهن همراه با آنزیم گلوکز اکسیداز به منظور شناسایی گلوکز (۲۶).

نانوفلورهای هیبریدی منگنز

منگنز از دیگر یون‌های فلزی بود که پس از مس و کلسیم برای تهیه نانوفلورها مورد بررسی قرار گرفت. نانوفلورهای هیبریدی ساخته شده با استفاده از این یون و آنزیم لیپاز، فعالیت ۶ برابری نسبت به آنزیم آزاد از خود نشان داد (۲۶). تا به امروز، از سایر اجزاء آلی مانند ایمونوگلوبین G (۲۷) و آلبومین سرم گاو (BSA^۱) نیز جهت ساخت نانوفلورهای هیبریدی با فسفات منگنز استفاده شده است (۲۸). همچنین تثبیت همزمان آنزیم‌های بتا-گالاکتوزیداز و ال-آرآرینوز ایزومراز در ساختارهای هیبریدی فسفات منگنز برای تهیه قند تاگاتوز استفاده شده است (۲۹). در مطالعه‌ای دیگر امکان اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن در سرم با استفاده از نانوفلورهای هیبریدی هموگلوبین و فسفات کلسیم فراهم آمده است (۳۰).

نانوفلورهای هیبریدی آهن

اکسید آهن مشابه مس دارای فعالیت کاتالیزوری شبه فنتون^۲ است (۳۱). در مطالعه صورت گرفته مطابق شکل ۳، فعالیت ذاتی شبه پراکسیداز نانوفلورهای هیبریدی بر پایه آهن به علت داشتن خاصیت فنتونی همراه با آنزیم گلوکز اکسیداز افزایش پیدا کرد که می‌تواند به عنوان یک کاتالیزور خودفعال در شناسایی گلوکز به کار رود (۳۲). همچنین به کارگیری پراکسیداز ترب کوهی به عنوان جزء آلی در تهیه نانوفلورهای هیبریدی می‌تواند منجر افزایش فعالیت آنزیمی تا ۷۱۰ درصد گردد (۳۳). علاوه بر این، به کارگیری لیپاز در نانوفلورهای هیبریدی بر پایه آهن نیز باعث افزایش ۵ برابری در فعالیت آنزیمی شد (۳۴).

تهیه نانوفلورهای هیبریدی با استفاده از سایر

یون‌های فلزی

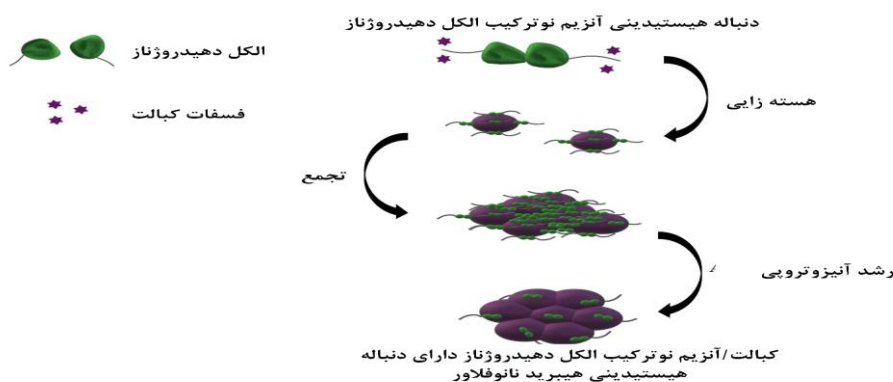
به جز موارد ذکر شده، مطالعاتی جهت ساخت نانوفلورهای هیبریدی با استفاده از سایر یون‌های فلزی نیز صورت گرفته است. یکی از آن‌ها، فلز روی است که برای تشکیل نانوفلورهای هیبریدی حاوی آن از پاپاین به عنوان جزء آلی استفاده شد و

پایداری نانوساختارهای زیستی تهیه شده در محدوده مناسبی از دما و pH بهبود یافت (۳۵). همچنین تثبیت لیپاز بر نانوفلورهای هیبریدی حاوی روی موجب بهبود فعالیت و پایداری آنزیم گردید (۳۶). علیرغم گزارش‌های موجود در مورد انواع نانوفلورهای هیبریدی، تشکیل نانوفلورها بر پایه فسفات کبالت به ندرت مورد بررسی قرار گرفته است و مطالعات اندکی در این زمینه وجود دارد. مراحل تشکیل نانوفلورهای هیبریدی کبالت در شکل ۴ نشان داده شده است. مجاورت اسید آمینه‌های هیستیدینی مولکول پروتئین با یون‌های فلزی موجود در محیط واکنش منجر به تشکیل کمپلکس فلز-پروتئین می‌گردد. کمپلکس حاصل نقطه آغاز هسته‌زایی و ساخت نانوفلورهای هیبریدی می‌باشند. از آنجایی که آنزیم موجود در این ساختار با محیط اطراف در تماس است قادر به اثر بر سوبسترای اختصاصی خود خواهد بود. نتایج حاصل از مطالعه‌ای نشان داد که یون‌های کبالت می‌توانند با برقراری اتصالات قوی به سوبسترا و اثرات آلوستریک موجب بهبود عملکرد کاتالیزوری آنزیم دی-سیکوز-۳-اپیمراز^۳ (DPEase) شوند. بررسی ویژگی‌های کاتالیزوری DPEase در شرایط بهینه شده (دمای ۶۰ درجه سلسیوس و pH ۸/۵) نشان داد که فعالیت این کاتالیزور زیستی تثبیت شده بر پایه فسفات کبالت، ۷/۲ برابر بیشتر از فرم آزاد آن بود. پایداری pH و دمایی DPEase تثبیت شده نیز به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. همچنین بعد از ۶ سیکل متوالی قابلیت استفاده مجدد بسیار خوبی از خود نشان داد؛ در حالی که ۹۰ درصد از فعالیت کاتالیزوری آن باقی مانده بود. به نظر می‌رسد نانوفلورهای هیبریدی بر پایه کبالت می‌توانند مورد بررسی بیشتری قرار گیرند و پتانسیل بهبود ویژگی‌های کاتالیزوری آنزیم‌ها را دارد (۳۷، ۳۸). همچنین استفاده از کادمیم به عنوان جزء غیر آلی به همراه کلروپروکسیداز در رنگبری کریستال ویوله، پایداری دمایی و قابلیت استفاده مجدد مناسبی داشت (۳۹). در به کارگیری فلزاتی مانند آلومینیوم، نقره و طلا جهت ساخت نانوفلورهای هیبریدی حاوی آنزیم لیپاز نیز مطالعات امیدبخشی صورت گرفته است (۴۰).

³ d-Psicose-3-epimerase

¹ Bovine serum albumin (BSA)

² Fenton



شکل ۴- ساخت و مراحل تشکیل نانوفلورهای هیبریدی فسفات کبالت با الکل دهیدروژناز (۳۱).

روش‌های ساخت نانوفلورهای هیبریدی آلی-غیرآلی

روش مینرالیزاسیون زیستی

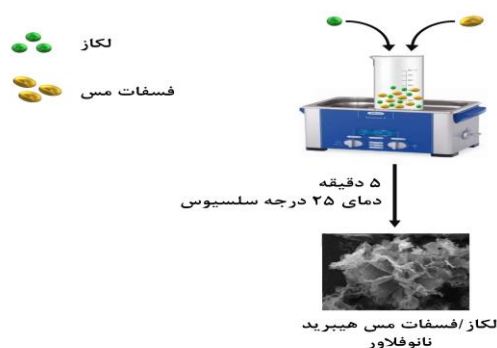
نانوفلورهای هیبریدی برای اولین بار به‌طور تصادفی و با اضافه کردن سولفات مس به بافر فسفات سالین حاوی آلومین سرم گاو و انکوباسیون در دمای محیط به مدت ۳ روز به‌دست‌آمد (۲). این روش، یکی از رایج‌ترین راه‌های ساخت نانوفلورهای هیبریدی است و به آن مینرالیزاسیون زیستی اطلاق می‌شود. روش مذکور به مدت زمان کافی جهت تکمیل رشد آنیزوتروپی^۱ نانوفلورهای هیبریدی نیاز دارد. در اکثر مطالعات انجام شده با این روش، اجزاء تشکیل‌دهنده نانوفلورهای هیبریدی در دمای ۴ یا ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت در مجاورت یکدیگر انکوبه می‌شوند (۴۱). مدت زمان طولانی ذکرشده امکان استفاده از این روش را در کاربردهای صنعتی کاهش می‌دهد. همچنین، ممکن است از پایداری اجزاء آلی موجود در نانوفلورهای هیبریدی به ویژه پروتئین‌ها و DNA که مستعد دنا توره شدن هستند، کاسته‌شود.

روش سونیکاسیون فوق سریع

تشکیل نانوساختارها از طریق سونیکاسیون تا به امروز توسط گروه‌های تحقیقاتی متعددی مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته درحالی که ساخت نانوفلورهای هیبریدی آلی-غیرآلی به ندرت با استفاده از این روش گزارش شده‌است. در این روش، اجزاء آلی و غیرآلی نانوفلورهای هیبریدی به‌جای انکوباسیون در مدت‌های طولانی

¹ Anisotropy

(به‌طور مثال، طی ۳ روز) تحت سونیکاسیون قرار گرفته و سریعاً تشکیل می‌شوند (۴۲). تاکنون، نانوفلورهای هیبریدی متشکل از جزء آلی گلوکز اکسیداز، لکاز، کاتالاز و آلومین سرم گاو با بکارگیری این روش ساخته شده‌اند. در یک مطالعه، نانوفلورهای هیبریدی آلومین سرم گاو-فسفات مس طی سونیکاسیون در مدت زمان یک دقیقه تهیه شدند (۴۳). مدت زمان بالاتر سونیکاسیون، تغییری در ساختار این نانوفلورها ایجاد نکرد. در مطالعه دیگری، نانوفلورهای هیبریدی مس با هموگلوبین بعد از سونیکاسیون به مدت ۵ دقیقه مطابق شکل ۵ تشکیل شدند و ساختار حاصل فعالیت و پایداری بالاتری نسبت به هموگلوبین آزاد از خود نشان‌داد (۴۴). به‌طور کلی، این روش با داشتن سرعت بالای تشکیل (حداکثر ۱۰ دقیقه) می‌تواند جایگزین مناسبی برای ساخت نانوفلورهای هیبریدی در مقیاس بالا باشد.



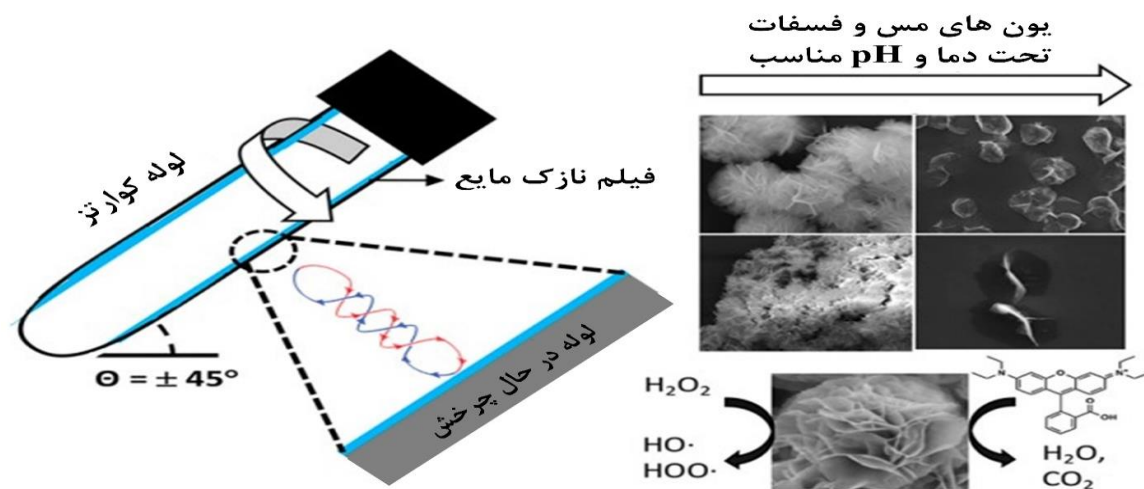
شکل ۵- سنتز نانوفلورهای هیبریدی با روش سونیکاسیون سریع به مدت ۵ دقیقه (۴۲).

روش دومرحله‌ای

حضور جزء آلی و ایجاد پیوند کوئوردیناسیون با فسفات یک فلز به شکل‌گیری ساختارهای شبه گُل منجر می‌شود (۴۵، ۴۶)؛ با این حال، بنظرمی‌رسد که به‌طور عملی فقط فسفات برخی از فلزات چنین شکل‌هایی بوجود می‌آورند (۴۷، ۴۸). در روش ساخت دومرحله‌ای، ابتداء سنتز نانوفلورهای هیبریدی آلی-غیرآلی سنتز می‌گردند. در روی این ساختارها تثبیت می‌شوند؛ به این ترتیب، طی یک روش دومرحله‌ای نانوفلورهای هیبریدی آلی-غیرآلی سنتز می‌گردند. در یک مطالعه، آنزیم لیپاز با به‌کارگیری این روش بر روی نانوفلورهای فسفات تثبیت شد (۴۷)؛ به این صورت که ابتداء سولفات مس به بافر فسفات (۱۰۰ میلی‌مولار با pH ۹/۲) اضافه گردید و بعد از گذشت ۱۶ ساعت انکوباسیون، نانوفلورهای فسفات مس شکل گرفت. سپس لیپاز بعد از ۱۲ ساعت انکوباسیون از طریق روندهای جذب سطحی بر روی سطح این نانوفلورها تثبیت شد. کارایی نانوفلورهای هیبریدی سنتز شده حاوی لیپاز با این روش حدود ۵۸ درصد گزارش گردید و همچنین فعالیت و پایداری آنزیم نیز به‌طور چشمگیری بهبود پیدا کرد. این روش سنتز نانوفلورهای هیبریدی، مشابه روش مینرالیزسیون زیستی به مدت زمان طولانی‌تری برای سنتز نیاز دارد که جهت استفاده‌های صنعتی مناسب نخواهد بود (۴).

روش تنش بُرشی

استفاده از تنش بُرشی (شکل ۶) یکی دیگر از روش‌های با سرعت بالا در سنتز نانوفلورهای هیبریدی است که اخیراً مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته‌است. در این روش به‌منظور تولید نانوفلورهای هیبریدی، ابتدا بافر فسفات سدیم و سولفات مس با سرعت ثابت ۰/۵ میلی‌لیتر بر دقیقه به داخل یک سرنگ شیشه‌ای وارد گردید. همزمان با ورود مواد واکنش، این سرنگ شیشه‌ای تحت زاویه ۴۵ درجه و دمای ۴۵ درجه سلسیوس و با سرعت ۹۰۰۰ دور در دقیقه در حال چرخش بود. بعد از گذشت ۲ دقیقه، کریستال‌های حلقوی اولیه تشکیل شده و پس از گذشت ۳۰ دقیقه از انجام واکنش در شرایط ذکر شده، رشد نانوفلورهای هیبریدی تکمیل گردید (۴۹). پس از پایان واکنش نانوساختارهای ایجاد شده تحت بررسی ساختاری قرار گرفتند. از این روش می‌توان برای تشکیل نانوفلورها بدون حضور جزء آلی نیز استفاده نمود. این روش، نیاز به زمان کوتاهی (۳۰ دقیقه) جهت تشکیل نانوفلورها دارد که امکان استفاده از آن را در صنعت افزایش می‌دهد. لازم به ذکر است که استفاده از تنش بُرشی در سنتز نانوفلورهای هیبریدی به تجهیزات و دستگاه‌های ویژه‌ای نیازمند است که معمولاً دسترسی به آن‌ها برای همه آزمایشگاه‌ها میسر نیست.

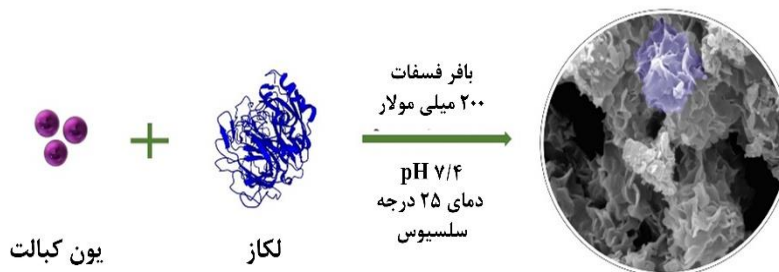


شکل ۶- سنتز نانوفلورهای هیبریدی توسط الگوی تنش بُرشی طی مدت زمان ۳۰ دقیقه (۴۳).

روش تغلیظ کردن

این روش تشکیل نانوفلورهای هیبریدی، اخیراً طی مطالعه‌ای با استفاده از آنزیم لکاز معرفی شد که با به کارگیری آن بدون نیاز به روش‌های سنتی پیشین از قبیل تنش برشی، سونیکاسیون و انکوباسیون طولانی مدت نانوفلورهای هیبریدی لکاز-فسفات کبالت (شکل ۷) سنتز گردید (۵۰، ۵۱). در این روش، غلظت یون‌های کبالت و بافر فسفات جهت دستیابی به بالاترین سطح فعالیت زیستی (آنزیم لکاز) مورد بهینه‌سازی قرار گرفت. با افزایش غلظت بافر فسفات و یون کبالت، فرآیند هسته‌زایی اولیه افزایش یافت که مطابق معادله $z = (\sqrt{2\pi D^2 \bar{v} N}) \times V^{-1}$ امکان برخورد نانوکریستال‌ها به یکدیگر

زیاد شد و نانوفلورهای هیبریدی سریعاً تشکیل گردید. در این فرمول z فرکانس برخورد، D قطر ذره، $\bar{v}$ سرعت متوسط ذره‌های پراکنده شده، N تعداد کلی ذره‌ها و V حجم نهایی محیط واکنش است. در روش‌های پیشین که نانوفلورهای هیبریدی در مدت زمان کوتاهی با ورتکس و سونیکاسیون سنتز می‌شدند، $\bar{v}$ نیز افزایش پیدایم کرد که طبق معادله ذکر شده فرکانس برخورد افزایش یافته و در نتیجه رشد آنیزوتروپی نانوفلورهای هیبریدی تسریع می‌شد. اخیراً، در مطالعه دیگری نیز از این روش جهت سنتز نانوفلورهای هیبریدی لکاز-فسفات روی استفاده گردید (۴۵).



شکل ۷- سنتز سریع نانوفلورهای هیبریدی لکاز-فسفات کبالت که با غلظت‌های بالای یون کبالت و بافر فسفات سنتز شدند (۴۴).

روش سنتز سبز

یکی از معضلات پیش‌رو برای استفاده وسیع از نانوفلورهای ساخته شده زیست‌سازگاری ترکیبات حاصله است. از این رو نیاز به روش‌هایی با قیمت پایین و بدون تولید یا مصرف مواد سمی و فارغ از آسیب‌های زیست محیطی رو به افزایش می‌باشد. یکی از روش‌های تولید این ساختارهای هیبریدی تولید به روش زیستی (سبز) است و امروزه توجه به این روش برای تولید نانوفلورها رو به افزایش می‌باشد. به عنوان مثال از جمله تلاش‌هایی که برای بیوسنتز نانوفلورها انجام شده تولید این ساختارها به وسیله میکرواورگانیسم‌ها می‌باشد. از این جمله می‌توان به استفاده از *Bhargavaea indica* DC1 برای تولید نانوفلورهای طلا اشاره کرد. در این روش پس از کشت ۲۴ ساعته میکرواورگانیسم‌ها و سانتریفوژ محیط

کشت، مایع رویی^۱ که فاقد هرگونه باکتری بود برای ساخت نانوفلورهای نهایی استفاده شدند. به طوری که پس از افزودن کلروآریک اسید (کلرید طلا) به این محلول و نگهداری ۴۸ ساعته آن در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، نانوفلورهای طلا به صورت رسوب در ته ظرف تشکیل شدند (۵۲).

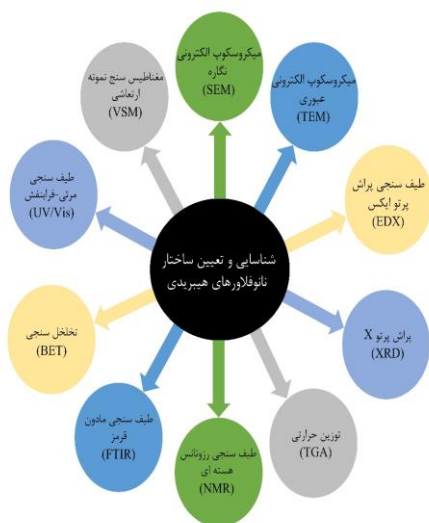
اتصال عرضی یون‌های دارای بار مخالف (پلیمرهای آنیونی و کاتیونی)

برقراری اتصالات عرضی بین کاتیون‌ها و آنیون‌های پلیمری یا همان روش ژلسازی یونوتروپیک^۲ یکی دیگر از روش‌های ساخت نانوفلورهای هیبریدی می‌باشد که برای دارورسانی ۵-

¹ Supernatant

² Ionotropic

داخلی و تعیین اندازه ذرات با قابلیت تصویربرداری مستقیم از ذرات تا اندازه یک اتم، از پراش پرتو ایکس^۳ (XRD) به منظور آنالیز سطح و تعیین ساختار کریستالی و از آنالیز توزین حرارتی^۴ (TGA) برای تجزیه و تحلیل دمایی نانوفلورهای هیبریدی استفاده می‌گردد. برای شناسایی گروه‌های عاملی و بررسی یا تغییر محتوای هیدروژن و کربن نانوفلورهای هیبریدی از طیف سنجی رزونانس هسته‌ای^۵ (NMR)، برای آنالیز گروه‌های عاملی موجود در ساختار نانوفلورهای هیبریدی از طیف سنجی مادون قرمز (FTIR)، برای اندازه‌گیری و بررسی تخلخل‌های سطحی نانوفلورهای هیبریدی از روش تخلخل سنجی^۶ (BET) و جهت تعیین غلظت اجزاء آلی و غیرآلی از طیف سنجی فرابنفش-مرئی (UV/Vis) استفاده می‌شود. همچنین، آنالیز مغناطیس‌سنج ارتعاشی^۷ (VSM) در تعیین خواص آهنربایی نانوفلورهای مغناطیسی تهیه‌شده به‌کار می‌رود (۵۴).



شکل ۸- روش‌های مختلف جهت شناسایی و تعیین ساختار نانوفلورهای هیبریدی (۵۴).

فلوئورو اوراسیل که امروزه به عنوان درمان اصلی مورد استفاده در سرطان کولورکتال است معرفی شد. در این روش پس از تهیه پلیمرهای کاتیونی سیکلودکسترین و بارگذاری دارو ۵- فلوئورو اوراسیل بر سطح آن پلیمرهای آنیونی آلژینات به آن اضافه گردید تا با برقراری اتصالات عرضی بین یون‌ها با بار مخالف نانوفلورهای حامل دارو دست آیند. به این ترتیب فرآورده حاصل آهسته‌رهش بوده و قدرت اثر گذاری بالاتری نسبت به فلوئورو اوراسیل آزاد دارد (۵۳).

ویژگی‌های نانوفلورهای هیبریدی آلی-غیرآلی

نانوفلورهای هیبریدی بر اساس ویژگی‌هایی از قبیل شکل، اندازه، درصد نسبت پروتئین به وزن کل و کارایی جزء آنزیمی نسبت به آنزیم آزاد دسته‌بندی می‌شوند (جدول ۲). اندازه نانوفلورهای هیبریدی بر اساس غلظت جزء آلی می‌تواند متفاوت باشد؛ اما به‌طور کلی میانگین اندازه نانوفلورها بین ۲ تا ۳۰ میکرومتر است. همچنین قطر منافذ این ساختارها در حدود ۱۰۰ نانومتر می‌باشد. شکل نانوفلورهای هیبریدی مشابه گل‌های گرد است که ظاهر انواع مختلف آن‌ها نسبت به یکدیگر متفاوتند. درصد نسبت پروتئین به وزن کل توسط آنالیز توزین حرارتی اندازه‌گیری می‌شود که در حدود ۱۰ تا ۶۶ درصد وزن کلی آن‌ها از پروتئین تشکیل شده‌است. در مقایسه با آنزیم آزاد، کارایی آنزیمی نانوفلورهای هیبریدی از ۸۵ تا ۱۰۰۰ درصد متفاوت است. نتایج به‌دست آمده طی مطالعات گسترده نشان می‌دهد که فعالیت و پایداری آنزیم‌ها در نانوفلورهای هیبریدی نسبت به آنزیم آزاد بیشتر است. علاوه براین، نانوفلورهای هیبریدی با محدودیت انتقال جرم مواجه نیستند و می‌توانند کاربردهای متنوعی در زمینه‌های تحقیقاتی و تشخیصی داشته باشند (۹). به‌منظور شناسایی و تعیین ساختار نانوفلورهای هیبریدی از تکنیک‌های مختلفی (شکل ۸) استفاده می‌شود. از میکروسکوپ الکترونی روبشی^۱ (SEM) برای شناسایی شکل فضایی خارجی و تعیین ساختار شبه گل نانوفلورهای هیبریدی، از میکروسکوپ الکترونی عبوری^۲ (TEM) تا حدودی جهت شناسایی شکل فضایی

^۱ Scanning electron microscopy

^۲ Transmission electron microscope

^۳ X-ray Diffraction

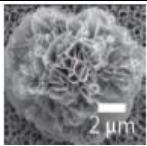
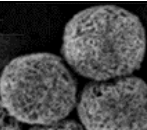
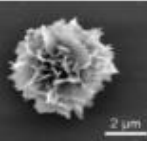
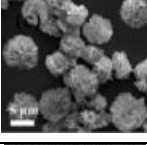
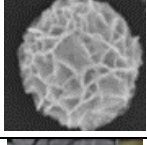
^۴ Thermogravimetry analyzer

^۵ Nuclear magnetic resonance

^۶ Brunauer-Emmett-Teller

^۷ Vibrating sample manetometer

جدول ۲- مشخصات تعدادی از نانوفلورهای آلی-غیرآلی و تشابه آن‌ها با گل‌های طبیعی متناظر
(Reprinted from [9], Copyright (2015), with permission from Springer Nature)

فلز اصلی نانوفلورهای هیبریدی	تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره	تشابه با یک گل	اندازه (میکرومتر)	نسبت پروتئین (درصد)	افزایش کارایی آنزیمی (درصد)
مس			۲	–	لکاز (۶۵۰): کربنیک انیدراز (۲۶۰): لیپاز (۹۵)
مس			۲۰	–	گلوگز اکسیداز و پراکسیداز (۴۰۰)
مس			۲۷±۳	۹-۱۲	تریپسین (۲۷۰)
کلسیم			۱۷±۳	۱۷/۲	پراکسیداز (۵۰۶)
کلسیم			۲	۲۰/۲	آلفا-آمیلاز (۱۰۰۰)
کلسیم			۵	۲۵/۶	کاتالاز (۸۵)
مس			۲	–	–
مس			۱۰	۲۷/۲	کاتالاز (۱۱)

کاربردهای نانوفلورهای هیبریدی آلی-غیرآلی

کاربردهای نانوفلورهای هیبریدی در علوم زیستی

کاتالیزور زیستی صنعتی

در میان انواع مختلف مولکول‌های زیستی (پروتئین‌ها، DNA، مولکول‌های آلی کوچک)، آنزیم‌ها بیشترین استفاده را به‌عنوان جزء آلی جهت سنتز نانوفلورهای هیبریدی داشته‌اند. نانوفلورهای هیبریدی در مقایسه با روش‌های سنتی تثبیت آنزیم‌ها موجب افزایش بیشتر فعالیت‌های کاتالیزوری آن‌ها می‌شوند. سنتز اولین نانوفلورهای هیبریدی مؤید این نکته بود که یون‌های مس و پروتئین‌ها قادرند نانوذرات جدیدی ایجاد نمایند. متعاقباً، چهار نوع دیگر از نانوفلورهای هیبریدی را با استفاده از α -لاکتالبومین، لکاز، کربنیک انیدراز و لیپازها سنتز کردند. بسیاری از تحقیقات علمی بر اساس فرآیندهایی انجام‌گرفته‌اند که شامل استفاده اختصاصی از لیپازها هستند. به عنوان مثال، در مطالعاتی از لیپاز پانکراس خوک به عنوان یک کاتالیزور زیستی در ترانس-استریفیکاسیون روغن آفتابگردان با متانول جهت تولید بیودیزل با قابلیت بازیافت مناسب استفاده شد (۵۵). فرآیند سنتز پالمیتات کلیندامایسین نیز با استفاده از نانوفلورهای لیپاز بهینه‌سازی گردید که قابلیت استفاده مجدد و پایداری حرارتی بالاتری را از خود نشان دادند (۲۴). از نانوفلورهای هیبریدی لیپاز-فسفات کلسیم سازگار با سرما برای کاتالیز واکنش صنعتی با اهمیت ترانس-استریفیکاسیون اسید لوریک و فروکتوز استفاده شد که در آن فعالیت، پایداری و قابلیت استفاده مجدد کاتالیزور زیستی به وضوح بهبودیافته بود (۵۶، ۵۷). در گزارشی دیگر از نانوفلورهای مغناطیسی سنتز شده با پاپائین برای هیدرولیز مؤثر آلرژن‌ها، β -لاکتوگلوبولین و α -لاکتالبومین در نمونه‌های شیر گاو استفاده شد. این نانوفلورهای هیبریدی فعالیت آنزیمی بالایی از خود نشان دادند و توانستند با استفاده از یک میدان مغناطیسی از شیر جداسازی شوند (۵۸). تیمار شیرگاو با نانوفلورهای هیبریدی به‌منظور هیدرولیز لاکتوز و تعدادی از آلرژن‌ها گزارش شده است (۶۰، ۵۹). فعالیت آنزیم پاپائین در نانوفلورهای هیبریدی در حدود ۱۵ درصد بیشتر از پاپائین آزاد بود. α -لاکتالبومین، β -لاکتوگلوبولین و آلبومین سرم گاوی (BSA) تقریباً به‌طور کامل پس از هیدرولیز

توسط این نانوفلورهای هیبریدی تخریب شدند. حتی پس از ۴ سیکل استفاده مجدد، نانوفلورهای هیبریدی توانستند α -لاکتالبومین و BSA را به‌طور کامل حذف کنند. این نانوفلورهای هیبریدی برای تجزیه لاکتوز در بیماران که به وجود لاکتوز در شیر و یا سایر غذاها حساس هستند استفاده شد. کارایی هیدرولیز لاکتوز توسط نانوفلورهای هیبریدی سنتز شده با β -گالاکتوزیداز برای آن‌ها که توسط نمک‌های کلسیم، منگنز، کبالت، روی و مس به عنوان اجزاء غیرآلی تهیه شده بودند، ارزیابی گردید. درحالی که نانوفلورهای ساخته شده با کلسیم، فعالیت β -گالاکتوزیداز را افزایش می‌دهند، توسط نانوفلورهای هیبریدی بر پایه مس مهار می‌شوند. با این حال، نانوفلورهای سنتز شده با منگنز، روی و کبالت توانستند لاکتوز شیر را به‌طور کامل تجزیه نمایند (۶۰).

نانوفلورهای هیبریدی بر پایه آنزیم، به ویژه، می‌توانند به منظور تخریب و تجزیه آلاینده‌ها در محیط زیست طراحی شوند. لکازها و پراکسیدازها، آنزیم‌هایی هستند که به‌طور گسترده برای پاکسازی آلاینده‌های زنبیوتیکی در آب و خاک مورد استفاده قرار می‌گیرند بنابراین از تثبیت همزمان آن‌ها در ساختار نانوفلورهای هیبریدی می‌توان بهره زیادی گرفت (۶۱). به‌دنبال پژوهشی که در سال ۲۰۲۲ انجام‌گرفت از نانوفلورهای هیبریدی لکاز-فسفات کبالت به‌منظور حذف زیستی موکسی فلوکسازین، که یکی از آنتی بیوتیک‌های نسل چهارم از دسته فلوروکینولون‌هاست استفاده شد. نانوفلورهای هیبریدی لکاز-فسفات کبالت توانستند ۹۹ درصد از موکسی فلوکسازین را توسط دو مکانیسم جذب سطحی و تخریب زیستی به ترتیب با مقادیر ۲۴ و ۷۵ درصد در مدت ۲۴ ساعت حذف نمایند (۵۰). در پژوهشی با استفاده از نانوفلورهای هیبریدی متشکل از آنزیم پراکسیداز، رنگ ویکتوریا بلو در آب بی‌رنگ گردید (۶۲). این نانوفلورهای هیبریدی فعالیت آنزیمی بالایی از خود نشان دادند و پس از ۱۰ سیکل متوالی توانستند ۷۷ درصد از فعالیت اولیه خود را حفظ کنند که حاکی از پتانسیل بالای آن‌ها برای استفاده در مقیاس صنعتی است. در مطالعه دیگری، از نانوفلورهای کلروپراکسیداز برای رنگ‌زدایی کریستال ویوله استفاده شد که این نانوفلورها پایداری حرارتی بالایی تا ۷۰ درجه سلسیوس و قابلیت

استفاده مجدد چشمگیری از خود نشان دادند. همچنین از نانوفلورهای مغناطیسی سنتز شده با لکاز برای تجزیه بیس فل-A در آب استفاده شد. نانوفلورهای هیبریدی مذکور، پتانسیل بالایی داشتند و توانستند در شرایط بهینه، تنها در مدت ۵ دقیقه بیس فل-A را به طور کامل تجزیه کنند و در انتها به دلیل دارا بودن خواص مغناطیسی به راحتی توسط آهن ربا از محیط جدا شوند (۶۳). همچنین در یک مطالعه مشابه، از گلوکز اکسیداز و لیپاز به عنوان اجزاء آلی و از فسفات مس به عنوان جزء غیرآلی استفاده گردید و نانوفلورهای آنزیمی-غیرآلی متشکل از این دو آنزیم سنتز شدند. از نانوفلورهای هیبریدی دو آنزیمی گلوکز اکسیداز/لیپاز در اپوکسیداسیون آلکن‌ها استفاده شد. نتایج تصویربرداری و عملکرد کاتالیزوری نشان می‌دهد که نانوفلورهای دو آنزیمی تا حد زیادی انتشار و تجزیه آب اکسیژنه را کاهش می‌دهند و انتقال جرم را برای گلوکز اکسیداز/لیپاز بهبود می‌بخشند. بازده اپوکسیداسیون نیز پس از ۱۰ سیکل متوالی در حدود ۸۲ درصد بود که نشانگر قابلیت استفاده مجدد خوب این نانوفلورهای هیبریدی دو آنزیمی می‌باشد (۶۴).

روش‌های مبتنی بر پروتئولیز مولکول‌های پروتئین در حال حاضر به عنوان گام کلیدی برای شناسایی مؤثر پروتئین‌ها بعد از سنتز آن‌ها است. به عنوان یک قاعده، پروتئولیز با استفاده از آنزیم‌های آزاد (تریپسین، کموتریپسین و غیره) انجام می‌شود؛ اما تجزیه و تحلیل بر این اساس با محدودیت‌هایی همچون زمان هضم طولانی، اتولیز، پایداری کم در محیط، تنوع پپتیدهای حاصل و بازیابی پیچیده محصولات روبرو است. برای رفع این محدودیت‌ها، تریپسین بر روی نانوفلورهای هیبریدی تثبیت شد تا به عنوان یک کاتالیزور زیستی به راندمان بالای پروتئولیز، پایداری خوب آنزیمی، استفاده مجدد و همچنین زمان هضم کوتاه دست‌یابد. علاوه بر این، فعالیت جزء آنزیمی نانوفلورهای هیبریدی با آنزیم آزاد قابل مقایسه بود (۱۵).

محققان همچنین یک روش ساده، مقرون به صرفه و سبز بر اساس مینرالیزاسیون زیستی را برای تشکیل نانوفلورهای هیبریدی لیپاز با قابلیت استفاده به عنوان کاتالیزور زیستی جهت تولید سوخت-زیستی معرفی کرده‌اند (۶۵). در این نانوفلورهای هیبریدی،

مولکول‌های آنزیم و یون مس به ترتیب به عنوان اجزاء آلی و غیرآلی استفاده شدند. شکل فضایی نانوفلورهای هیبریدی، توزیع و بارگیری پروتئین‌ها به طور سیستماتیک توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی، میکروسکوپ روبشی لیزری و طیف‌سنجی مرئی فرابنفش مشخص شد که نشان‌دهنده انکپسوله‌سازی موفق لیپاز در نانوفیبرهای هیبریدی بود. با توجه به هیدرولیز پارا-نیتروفنیل کارپرات به عنوان یک سوپسترا مدل، نانوفلورهای هیبریدی لیپاز دارای فعالیت کاتالیزوری و پایداری بالایی در هیدرولیز استر بودند. از این نانوفلورها به عنوان کاتالیزور برای تولید سوخت‌زیستی نیز استفاده شد که توانست روغن آفتابگردان را تا ۹۶/۵ درصد به سوخت‌زیستی تبدیل کند و پس از ۵ سیکل متوالی، ۷۲/۵ درصد از فعالیت آن‌ها باقی بماند. بنابراین، نانوفلورهای هیبریدی متشکل از لیپاز می‌توانند در آینده به عنوان یک کاتالیزور زیستی مقرون به صرفه در تولید سوخت‌های زیستی مورد استفاده قرار گرفته و جایگزین بنزین شوند (۶۵).

حسگرهای زیستی

پژوهش‌های متعددی بر توسعه سنسج زیستی با استفاده از نانوفلورهای هیبریدی انجام گرفته‌است. گروهی از پژوهشگران از پراکسیداز ترب کوهی به عنوان جزء آلی، انواعی از نانوفلورهای هیبریدی را سنتز کردند که قادرند با ایجاد پاسخ رنگ‌سنجی بطور مؤثر اکسیداسیون دوپامین را در حضور پراکسید هیدروژن انجام دهند (۶۶). به طور مشابه، لاکتوپراکسیداز نیز توسط نانوفلورهای هیبریدی تثبیت گردید که در تشخیص رنگ‌سنجی دوپامین و اپی نفرین به کار گرفته شد (۶۷). در پژوهشی دیگر، نوعی حسگر زیستی مقرون به صرفه و قابل حمل جهت تشخیص گروهی از عوامل بیماری‌زا ساخته شد. این حسگر با استفاده از نوارهای تست بارداری اصلاح‌شده توسط نانوفلورهای هیبریدی متشکل از لکتین (کانکاولین-آ) و گنادوتروپین جفتی انسانی (HCG)، به عنوان پروب‌های سیگنال‌دهی در تشخیص پاتوژن‌های بیماری‌زایی مانند *اشریشیا کلی*^۱ و *استافیلوکوکوس تیفی*^۲ عمل کرد (۶۸).

¹ *Escherichia coli*

² *Staphylococcus typhi*

همچنین، از نانوکریستال‌های هیبریدی سنتز شده حاوی آنزیم جهت تشخیص فل و اکسیداسیون کاتکول آمین استفاده شد. فعالیت آنزیمی نانوفلورهای هیبریدی برابر یا بیشتر از فعالیت آنزیم آزاد بود. افزایش کارایی آنزیمی به علت نسبت سطح به حجم بالای نانولایه است که محدودیتی در انتقال جرم به وجود نمی‌آورد. همچنین این تأثیر ممکن است از میانکشی متقابل آنزیم و ریزمحیط نانوفلورهای که حاوی یون‌های فلزی است ناشی شود (۲). در مطالعه‌ای، یک شناساگر فلزی از نانوفلورهای هیبریدی چند آنزیمی با استفاده از گلوکز اکسیداز و پراکسیداز ترب کوهی تهیه شد. با توجه به نزدیکی دو جزء آنزیمی در یک نانوفلور، این حسگر جدید انتشار و تجزیه آب اکسیژنه را تا حد زیادی کاهش داد و حساسیت تشخیص گلوکز افزایش پیدا کرد. بنابراین، نانوفلورهای هیبریدی آلی-غیرآلی متشکل از چند آنزیم می‌توانند به عنوان حسگرهای رنگ‌سنجی بسیار حساس برای تشخیص گلوکز استفاده شوند (۶۹).

یکی از روش‌های جدید در تشخیص بیماری آلزایمر استفاده از پروتئین پیش ساز آمیلوئید^۱ (APP) است (۷۰). به این منظور، یک نوع کامپوزیت حاوی پراکسیداز، آنتی‌بادی ضد APP و فسفات مس به عنوان حسگر زیستی با روش هم‌رسوبی سنتز شده است. در ابتداء، APP با استفاده از پلی ال-لیزین به عنوان عامل پوشش دهنده به سطح میکروپلیت کونژوگه شده و سپس مواد کامپوزیتی طی برهمکنش با APP و آنتی‌بادی‌ها به میکروپلیت اتصال می‌یابند. پراکسیداز ترب کوهی می‌تواند اکسیداسیون تترامیتیل بنزیدین را کاتالیز کند و محصولات رنگی تشکیل دهد. در نتیجه، هرچه APP بیشتر (به فرم آزاد) در محلول مورد آزمایش وجود داشته باشد، مواد کامپوزیت کمتری به APP تثبیت شده روی میکروپلیت متصل شده که منجر به تولید محصولات رنگی کمتری می‌گردد. این روش در مقایسه با روش ایمونواسی مشابه، حساسیت بالاتری دارد (حد تشخیص ۰/۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با ۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر) و می‌تواند جهت تشخیص نمونه‌های سرم انسانی نیز استفاده شود (۷۱).

اخیراً یک حسگر زیستی با نقاط کوانتومی دی‌سولفید قلع

¹ Amyloid precursor protein

(SnS₂) بر اساس نانوکریستال‌ها در تشخیص و شناسایی آنتی‌بادی‌های pp65 ضدسیتومگالوویروس ایجاد شده است (۷۲). حسگر زیستی مذکور با استفاده از نقاط کوانتومی دی‌سولفید قلع که در آب محلول بوده و غیرسمی است روی نانوفلورهای نقره طراحی و ساخته شد. حسگر زیستی پیشنهادی برای تشخیص pp65 ضدسیتومگالوویروس، حساسیت بالایی در محدوده خطی گسترده از ۰/۱ تا یک میلی‌مولار و حد تشخیص بسیار مناسب (۰/۳۳ میکرومولار) نشان داد (۷۲). نکته قابل توجه این است که این کار روش مؤثر جدیدی را در شناسایی انتخابی و با حساسیت بالای آنتی‌بادی‌ها به منظور تشخیص بیماری‌ها به واسطه تجزیه و تحلیل بالینی معرفی می‌نماید.

تشخیص پراکسید هیدروژن و فل یکی از مشکلات حائز اهمیت در حیطه استفاده از کاتالیزورهای زیستی است. در پژوهشی، نانوفلورهای هیبریدی برای شناسایی پراکسید هیدروژن و فل با استفاده از یون‌های مس و پراکسیداز ترب کوهی سنتز شدند (۱۷). از نانولوله هیبریدی به عنوان کاتالیزور در واکنش پراکسید هیدروژن با فل در حضور ۴-آمینوآنتی پیرین استفاده گردید. تغییر رنگ محلول در غلظت‌های ۰/۵ میکرومولار از پراکسید هیدروژن و یک میکرومولار از فل قابل تشخیص بود. در مقابل، حدتشخیص برای پراکسید هیدروژن و فل با استفاده از پراکسیداز آزاد به ترتیب برابر با ۲۰ و ۱۰ میکرومولار بود (۶۱).

حسگرهای زیستی الکتروشیمیایی

حسگرهای زیستی الکتروشیمیایی یک فناوری جدید است که با داشتن ویژگی‌هایی از قبیل سهولت کار، هزینه تشخیص کم، گزینش‌پذیری خوب، حساسیت و سرعت آنالیز بالا در زمینه تشخیص بیماری‌ها کاربردهای موثری دارند (۷۳). از رایج‌ترین روش‌های الکتروشیمیایی مورد استفاده در این زمینه می‌توان به آمپرومتری، امپدانس و ولتامتری اشاره کرد (۷۴) که حسگرهای زیستی الکتروشیمیایی با این روش‌ها ایجاد می‌شوند. در سال‌های اخیر، نسبت سیگنال به نویز و تقویت سیگنال در حسگرهای زیستی الکتروشیمیایی مبتنی بر مواد نانو مختلف به دلیل توانایی این مواد در

افزایش فعالیت آنزیم و سیگنال‌های الکتریکی طی واکنش‌های آنزیمی مورد بررسی هستند. به عنوان مثال، در مطالعه‌ای نانوفلورهای هیبریدی کلسیم متشکل از کانکوالین-A^۱ سنتز شدند (۷۵) که فعالیت بهتری را نسبت به فرم آزاد از خود به نمایش گذاشتند و قابلیت تشخیص پاتوژن‌های غذایی داشتند.

میکروحسگر زیستی گلوکز بر اساس یک الکترواد انعطاف‌پذیر جهت کنترل مداوم سطح گلوکز خون ایجاد شد (۷۶). با استفاده از نانولایه‌های مس، میکروالکترودهای گلوکز اکسیداز و غشاهای پلی‌اورتان^۲ تهیه شدند. نانوساختارهای حاوی مس، سطح ویژه و فعالیت الکتروکاتالیزوری زیادی را برای تشخیص گلوکز فراهم کردند. حسگر زیستی ایجاد شده محدوده خطی گسترده (تا ۲۰ میلی‌مولار)، حساسیت بالا و زمان واکنش سریع (کمتر از ۱۵ ثانیه) داشت. آزمایش‌های درون‌تنی با استفاده از موش‌های بی‌هوش انجام شد که پاسخی مناسبی در برابر تغییرات غلظت گلوکز خون از خود نشان دادند. نتایج به‌دست آمده تأییدکننده کارایی این نوع میکروحسگر برای اندازه‌گیری تغییرات سریع گلوکز در داخل بدن است. علاوه بر این کاربرد، ترکیب آنزیم با حسگرهای زیستی الکتروشیمیایی می‌تواند مولکول‌های زیستی هدف را از طریق واکنش‌های آنزیمی که سریع، انتخابی و بسیار اختصاصی هستند با حساسیت بالا شناسایی کند. همچنین، مولکول‌های آنزیم معمولاً به عنوان کاندیدی برای برچسب‌های سیگنالی استفاده می‌شوند که یکی از رایج‌ترین و مؤثرترین استراتژی‌ها در زمینه حسگرهای زیستی الکتروشیمیایی است. به دلیل نسبت سطح به حجم بالا، زیست‌سازگاری و توانایی جذب سوپسترا نانوفلورها به یکی از حامل‌های پرکاربرد در حسگرهای زیستی الکتروشیمیایی تبدیل شده‌اند. به‌طوری که تشخیص دقیق و سریع/شریسیا کلی در ادار با استفاده از نانوفلورهای هیبریدی مس متشکل از پراکسیداز و گلوکز اکسیداز انجام گرفته‌است. همچنین حسگرهای زیستی الکتروشیمیایی پیشنهادی ممکن است در تشخیص و پایش عفونت دستگاه ادراری در محیط‌های بالینی استفاده شوند (۷۷).

با توجه به استفاده گسترده از تلفن‌های هوشمند، بسیاری از

محققان در تلاش هستند تا حسگرهای زیستی مینیاتوری را برپایه گوشی‌های هوشمند توسعه دهند. حسگرهای زیستی بر پایه تلفن‌های هوشمند همچنین می‌توانند امکان نظارت و تبادل شبکه‌های دیجیتال را در زمان مناسب فراهم‌آورند. در پژوهشی، یک نانوحسگر مغناطیسی حساس برای تشخیص بصری و کمی *سالمونلا* /*تریتیدیس*^۳ در شیر، پنیر و آب سنتز شد (۷۸). نمونه‌های *سالمونلا* با غلظت‌های مختلف با استفاده از دانه‌های مغناطیسی استرپتاویدین^۴ نشان‌دار شدند و توسط آنتی‌بادی‌های متصل به بیوتین در ترکیب با نانوکریستال‌های هیبریدی پراکسیداز ترب کوهی مورد آزمایش قرار گرفتند. اساس این روش تقویت سیگنال با استفاده از نانوکریستال‌ها است که با ایجاد رنگ قابل مشاهده، غلظت‌های بسیار پایین *سالمونلا* با استفاده از گوشی‌های هوشمند قابل تشخیص باشند. سیگنال گوشی‌های هوشمند دارای حد تشخیص بسیار کم در حد یک واحد تشکیل‌دهنده کلنی در میلی‌لیتر (CFU/ml) یا گرم (CFU/g) است. در مقایسه با روش خواندن میکروپلیت، گوشی‌های هوشمند دقت و حساسیت مناسبی در تشخیص *سالمونلا* دارند. این روش، ابزاری مناسب و امیدوارکننده برای تشخیص میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا است (۷۸، ۷۹).

حسگرهای DNA و microRNA

نانوفلورهای هیبریدی DNA@Cu²⁺ با استفاده از توالی‌های مختلف DNA به‌عنوان الگوهای زیستی و یون مس به عنوان جزء غیرآلی سنتز شدند. اندازه متوسط این نانوفلورهای هیبریدی در محدوده ۵ تا ۳۰ میکرومتر است که تا حد زیادی کاربردهای متنوع آن‌ها را در تصویربرداری زیستی سلول زنده محدود می‌کند (۷۹). در مطالعه‌ای دیگر، نانوفلورهای هیبریدی DNA@Cu₃(PO₄)₂ با نسبت سطح به حجم بالا و پایداری مناسب سنتز شدند. این حسگر زیستی می‌تواند miRNA-21 را به صورت کمی با حد تشخیص ۰/۴۱ نانومتر شناسایی کند (۸۰).

³ *Salmonella enterica*

⁴ Streptavidin

¹ Concanavalin-A

² Polyurethane

حسگرهای آلاینده‌ها و مولکول‌های بیولوژیکی

تشخیص و پاکسازی آلاینده‌ها (مانند یون‌های فلزات سنگین و مولکول‌های آلی سمی) موضوع پراهمیت بسیاری از مطالعات علمی دنیاست. سنتز نانوکریستال‌های هیبریدی آلبومین سرم گاو-مس و استفاده از آن‌ها به‌عنوان جاذب یون‌های کادمیوم و سرب در مقالاتی گزارش شده است (۸۱). نانوفلورهای هیبریدی آلبومین در ابتداء به‌عنوان جاذب برای استخراج فاز جامد یون‌های کادمیوم و سرب در نمونه‌های آب، غذا، سیگار و مو استفاده شدند. سپس اثرات پارامترهای کلیدی از قبیل pH، مقدار نانوفلورهای هیبریدی آلبومین، زمان ورتکس، حجم نمونه و ماتریکس یون‌های خارجی بر جذب کادمیوم و سرب بطور سیستماتیک مورد مطالعه و بهینه‌سازی قرار گرفتند. حد تشخیص برای کادمیوم و سرب به ترتیب ۰/۳۷ و ۸/۸ میکروگرم در لیتر بود. این روش با موفقیت برای آنالیز کادمیوم و سرب در نمونه‌های آب، غذا، سیگار و مو استفاده گردید

حامل‌های دارو و ژن و درمان بیماری‌ها

در یک پژوهش جالب، نانوحامل متشکل از نانوفلورهای طلا (AuNFs) که با دولایه از دی‌اکسید سیلیکون پوشیده شده بود برای بارگیری داروی دوکسوروبیسین ساخته شد (۸۲). همان‌طور که انتظار می‌رفت در مقایسه با نورگرمادرمانی (فوتوترمال‌تراپی) یا شیمی درمانی تنها، انجام همزمان شیمی درمانی به همراه نورگرمادرمانی با نانوفلورهای هیبریدی دوکسوروبیسین، پس از تابش اشعه اثر ضدتوموری را به میزان قابل توجهی افزایش داد. همچنین تزریق داخل توموری نانوفلورهای دوکسوروبیسین^۱ تحت تأثیر لیزر به‌طور چشمگیری تومورها را مهار کرد.

سیکلودکسترین‌ها (CD) سال‌هاست که به‌طور گسترده به‌عنوان جزئی از سیستم‌های دارورسانی مورد استفاده قرار می‌گیرند. با این حال، سیکلودکسترین‌های اصلاح نشده با حلالیت ضعیفی که در آب دارند می‌توانند به‌وضوح سمیت سلولی ایجاد نمایند که این ویژگی، استفاده از آن‌ها را در صنعت داروسازی محدود می‌کند. در یک مطالعه جالب (۵۳)، نانوفلورهای متشکل از بتا-

¹ Doxorubicin

سیکلودکسترین کاتیونی به‌عنوان یک هسته پلیمری همراه با گلبرگ‌های آلژینات و کیتوزان سنتز شدند که به‌عنوان حاملی برای تحویل خوراکی ۵-فلوئورواوراسیل با استفاده از روش ژل یونی معرفی گردید. متوسط اندازه نانوفلورهای به‌دست آمده ۳۰۰ نانومتر و پتانسیل زتای آن‌ها ۹/۹+ میلی ولت بود و با راندمان انکپسوله‌شدن ۷۷/۳ درصد، رهاسازی دارو از نانوفلورهای هیبریدی مذکور کنترل و پایدار گردید. نانوفلورهای سنتز شده روی رده‌های سلولی L929 آزمایش شدند و به‌طور بسیار مؤثری آن‌ها را مهار کردند (۵۳).

در مطالعه‌ای از DNA به‌عنوان جزء آلی به جای پروتئین استفاده شد (۸۴، ۸۳). از آنجا که DNA در محیط آبی محلول است و دارای تعداد زیادی اتم نیتروژن می‌باشد، براساس مکانسیم سنتز نانوفلورهای هیبریدی می‌توان از آن برای اتصال به یون‌های فلزی استفاده نمود. شکل فضایی هیبریدی نانوسطوح متشکل از کونژوگه DNA برای ساخت نانوذرات بر اساس اثر انتقال انرژی فلورسانس استفاده شد و از آن برای ایجاد تصاویر با وضوح بالا از سلول‌ها و همچنین ایجاد سیستم‌های ردیابی برای دارورسانی استفاده گردید. در این روش، یک الگو بر اساس DNA، دارو و رنگ فلورسنت تهیه شد و سپس نانوفلورهای هیبریدی با الگو ذکر شده متشکل از DNA سنتز شدند. تصاویر سلول‌ها با وضوح بالا به‌دست آمد و این سیستم مسیر دارورسانی به سلول‌های زنده را ردیابی کرد. در تحقیقی دیگر، نانوفلورهای RNAi را به منظور درمان تومورها ساختند. نانوفلورهای RNAi از پیش‌سازهای siRNA تشکیل شدند و از بیان ژن Bcl-2 جلوگیری می‌کردند. نانوفلورهای RNAi کاملاً از اسید نوکلئیک تشکیل می‌شوند و در مقایسه با معرف‌های پلی‌کاتیونی مصنوعی، سمیت سلولی و ایمنی‌زایی کمتری دارند. همچنین این نانوفلورهای هیبریدی می‌توانند با آپتامرهای DNA را که به‌طور خاص به پروتئین‌های غشایی برای هدف قراردادن سلول متصل می‌شوند را ادغام شوند (۸۵).

در مطالعه‌ای دیگر، یک سیستم درمانی ضدسرطان زیست تخریب‌پذیر بر اساس نانوفلورهای منیزیم و مولکول‌های DNA برای خاموش کردن مستقیم دو ژن مختلف ساخته شد (۸۲). مطالعات برون تنی و درون تنی نشان دادند که نانوفلورهای DNA دارای

خاصیت شناسایی هدفمند سلول‌های سرطانی، خاموش کردن ژن‌ها، القاء آپوپتوز و مهار رشد تومور هستند. با توجه به افزایش اثر درمانی و زیست سازگاری این پلتفرم درمانی، انتظار می‌رود که در درمان‌های بالینی سرطان مورد توجه قرار گیرد.

شیمی درمانی یکی از راه‌های اصلی درمان سرطان است. با این حال، مقاومت چند دارویی (¹MDR) و عوارض جانبی دارورسانی غیراختصاصی در درمان سرطان موجب کاهش کارایی روند درمانی آن می‌شوند. دارورسانی هدفمند با رساندن دارو به‌طور مستقیم به سلول‌های سرطانی به عنوان جایگزین مناسبی در مقایسه با روش‌های سنتی رایج در درمان سرطان مطرح است. آپتامرها با داشتن ویژگی‌های قابل توجهی از قبیل غربالگری و هدف‌گذاری آسان در برابر اهداف مختلف، قابلیت ایجاد پیوند قوی، کاهش سمیت سلولی و ایمنی زایی پایین می‌توانند برای این منظور مناسب باشند (۸۶). در این راستا، از نانوفلورهای چند منظوره متشکل از DNA و آپتامرها می‌توان برای شناسایی سلول‌های سرطانی خاص، فلوروفورها برای تصویربرداری زیستی و داروی دوکسوروبیسین متصل شده به DNA برای دارورسانی استفاده نمود. در مطالعه‌ای، نانوفلورهای DNA با آپتامرهای KK1B10 و sgC8 به ترتیب برای مدل‌های سرطان خون و سرطان پستان حساس به شیمی درمانی و مقاوم به چند دارویی استفاده گردید که توانستند داروهای ضدسرطانی را به صورت هدایت شده به سلول‌های هدف برسانند. این نانوفلورهای هیبریدی با داشتن ساختارهای متخلخل، ظرفیت بالایی در بارگیری مقادیر مناسبی از دارو داشتند (۸۷).

نانوفلورهای هیبریدی می‌توانند به‌عنوان یک حامل در درمان آنزیمی برای بیماران مبتلا به هیپراوریسمی نیز استفاده شوند (۸۸). نانوفلورهای هیبریدی فسفات کلسیم سنتز شده با آنزیم‌های اوریکاز و پراکسیداز در میکروسوزن‌های اسید هیالورونیک برای تحویل پوستی این دو آنزیم قرار می‌گیرند. پس از قراردادن میکروسوزن‌های حاوی اوریکاز و پراکسیداز در پوست، اسیداوریک توسط اوریکاز به آلانتوئین و پراکسید هیدروژن اکسید می‌شود. تجزیه پراکسید هیدروژن توسط پراکسیداز موجب کاهش عوارض جانبی پراکسید

هیدروژن تولید شده و افزایش پایداری و فعالیت اوریکاز می‌شود (۸۸). از نظر آسیب‌شناسی، بیماری آلزایمر با تشکیل رسوباتی در جسم سلولی نورونی و قسمت خارجی پایانه‌های عصبی مشخص می‌شود. بنابراین عواملی که بتوانند این آمیلوئیدها را تخریب کنند کاندیدای بالقوه‌ای برای درمان آمیلوئیدوز خواهند بود. در مطالعه‌ای پس از بررسی اندازه فیبرهای آمیلوئیدی با استفاده از روش‌های پراکندگی دینامیکی نور و میکروسکوپ نیروی اتمی نشان داده شد که نانو فلورهای اکسید روی می‌توانند آمیلوئیدها را با ظرفیت بالاتری نسبت به نانوذرات همتای خود تخریب کنند. این درحالی بود که نانوفلورهای ساخته شده کاملاً زیست سازگار بوده و حتی در در دوزهای بالاتر از آن‌چه فعالیت ضد آمیلوئیدی اثبات شده بود هیچ گونه اثر سمیتی بر سلول‌های PC12 و HaCaT نشان ندادند (۷۱).

مواد نانو با جذب شدید در ناحیه مادون قرمز، از طریق انتقال فوتون موجب تولید انرژی حرارتی می‌شوند و گرمای حاصله می‌تواند جهت حذف سلول‌های سرطانی مورد استفاده قرار گیرد. این خصوصیت یک ویژگی کلیدی در درمان سرطان با نورگرمادرمانی است. در یک تحقیق، نانوفلورهای آبدوست با استفاده از سولفور بیسموت (Bi_2S_3) ساخته شدند (۸۹). به‌واسطه ساختار سه بعدی نانوفلورهای تهیه شده، آن‌ها نسبت به نانوذرات سولفور بیسموت قابلیت جذب مادون قرمز بیشتری را داشتند در نتیجه موفقیت بیشتری در حذف سلول‌های سرطانی پوست نشان دادند. در مطالعه‌ای مشابه، نانوفلورهای مولیبدنوم حاوی پلی‌اتیلن گلیکول (PEG^2) به‌دلیل توانایی بالا در تبدیل نور به گرما به عنوان گزینه مناسب برای نور گرما درمانی معرفی گردیدند (۹۰). علاوه بر موارد ذکر شده، تاکتون نانوفلورهای زیادی از جمله سرب/نقره (۹۱)، طلا (۹۲)، دی‌اکسید سیلیسیم/کادمیم تلورید/سولفید کادمیم/سولفید زینک (۹۳) و غیره به عنوان روش‌های مؤثر نور گرما درمانی برای درمان سرطان پوست استفاده شده‌اند.

اخیراً نانوماده دی‌سولفیدمولیبدن (MoS_2) به همراه پلی‌اتیلن‌گلیکول به‌عنوان یک حامل دارویی توجه زیادی را

² Polyethylene glycol

³ Etnercept

¹ Multidrug-Resistant Organisms

به خود جلب کرده است. در یک مطالعه، نانوفلوروهای $\text{MoS}_2@\text{PEG}$ به عنوان یک حامل مناسب در بارگذاری داروی اتانرسپت جهت درمان در بیماران با آسیب نخاعی سنتز شده است (۹۴). بارگذاری اتانرسپت در نانوفلوروهای $\text{MoS}_2@\text{PEG}$ ، نشانگرهای التهابی مرتبط با M1 ماکروفاژها (شامل $\text{TNF-}\alpha$ ، CD86 و iNOS) را در شرایط آزمایشگاهی مهار می کنند و مارکرهای نشانگرهای ضدالتهابی مرتبط با M2 ماکروفاژها (شامل CD206 ، Agr1 و IL-10) را نیز ارتقاء می دهد. طبق مطالعات درون تنی در موش، نانوداروی $\text{Etanercept-MoS}_2@\text{PEG}$ با گردش طولانی مدت در بدن می تواند تا ۹۶ ساعت پس از آسیب نخاعی به طور مؤثری به نخاع آسیب دیده نفوذ کرده و ماکروفاژها را به سمت قطب نوع M2 سوق دهد. در نتیجه، تجویز $\text{MoS}_2@\text{PEG}$ به عنوان حامل اتانرسپت در موش ها می تواند از نوروپاتی حرکتی محافظت نماید و نواحی آسیب دیده را در محل ضایعه مرکزی کاهش دهد (۹۴).

همچنین سنتز نانوذرات طلا در دمای اتاق با استفاده از عصاره پوست گیاه جینسنگ سیبری (*Acanthopanax*) گزارش شد (۹۵). نانوفلوروهای تشکیل شده با داشتن نسبت سطح به حجم زیاد، ظرفیت بالایی در اتصال به چندین مولکول از متابولیت های گیاهی داشتند. پس از تأیید پایداری این نانوذرات، اثر ضدالتهابی آن ها روی سلول های RAW264.7 تحریک شده با LPS مورد بررسی قرار گرفت. این نانوذرات پروتئین های iNOS^1 و COX-2^2 ناشی از LPS و همچنین سطح بیان ژن را به همراه کاهش تولید NO و پروستاگلاندین E2 مهار کردند. همچنین، نانوفلوروهای هیبریدی مذکور انتقال $\text{NF-}\kappa\text{B}^3$ و پروتئین فعال کننده-۱ (AP-1^4) را با فسفوریلاسیون سیگنال دهی MAPK^5 ، که با تجزیه و تحلیل وسترن بلات دیده می شوند را مهار کردند. بنابراین، این نانوفلورها دارای فعالیت ضدالتهابی بوده و می توانند به عنوان کاندید درمانی در سرکوب بیماری های التهابی قرار گیرند (۹۵).

¹ Inducible nitric oxide synthase

² Cyclooxygenase-2

³ Nuclear factor kappa B

⁴ Activator protein-1

⁵ Mitogen-activated protein kinases

از نانوفلوروهای هیبریدی فسفات کلسیم-کیتوزان و اتصال آن با اسفنج کلاژن به منظور جلوگیری از خونریزی استفاده شد (۹۶). در پژوهش صورت گرفته، محصول نهایی پس از سنتز نانوفلوروهای هیبریدی و اتصال به اسفنج کلاژن و همچنین لیوفیلیزاسیون بدست آمد. میزان جذب آب اسفنج متصل شده با نانوفلوروهای هیبریدی ۵۰ درصد بیشتر از اسفنج تنها بود که برای هموستاز سریع مفید است. اگرچه میزان جذب هموگلوبین اسفنج کلاژن کیتوزان بیشتر از اسفنج اصلاح نشده بود و با جذب نهایی هموگلوبین برابر بود؛ اما اسفنج کلاژن متصل شده به نانوفلوروهای هیبرید کیتوزان-فسفات کلسیم اثر هموستاتیک بالاتر، زمان هموستاز کوتاه تر و کمترین میزان خونریزی را نسبت به اسفنج کلاژن، اسفنج کیتوزان و گاز استریل در مدل ترومای کبدی خرگوش نشان داد (۹۷).

در دهه های گذشته، ایمنی درمانی سرطان با شبیه سازی سیستم ایمنی به منظور درمان سرطان، پیشرفت های امیدوارکننده ای داشته است. با این حال، سیستم ایمنی بیماران مبتلا به سرطان معمولاً توسط مسیرهای سیگنالی سرکوب کننده ایمنی به خطر می افتد. بنابراین، ایمنی درمانی سرطان با فعال کردن مسیرهای تحریک کننده ایمنی ضدسرطان و غیرفعال کردن مسیرهای سرکوب کننده ایمنی اهمیت زیادی دارد (۹۸). در مطالعات ثابت شده که CpG (جایگاه '۳-گوانین-فسفات-سیتوزین-۵') می تواند مسیر گیرنده های شبه تول TLR9^6 تحریک کننده ایمنی را فعال نماید که درمان سرطان کارآیی بالینی دارد. علاوه بر این، پروتئین انتقال دهنده پیام و فعال کننده رونویسی STAT3^7 در ژن آدنوماتوز پولیپوز کلی APC^8 ها با مکانیسم های متعدد سرکوبگر سیستم ایمنی می تواند ایمنی فعال تحریک شده با CpG را سرکوب کند (۹۹). بنابراین، فعال کردن مسیر TLR9 و در عین حال غیرفعال کردن مسیر STAT3 در APC ها برای ایمنی درمانی سرطان اهمیت زیادی دارد. همچنین محققان با توجه به مسیرهای ذکر شده، نانواوکسن هایی با استفاده از اثر هم افزایی CpG و STAT3 برای ایمنی درمانی تومور سرطانی توسط نانوفلوروهای زیست پایدار و

⁶ Toll-like receptors

⁷ Signal transducer and activator of transcription 3

⁸ Familial Adenomatous Polyposis

متشکل از DNA، RNA و نتوانتی ژن سنتز کردند (۱۰۰). اخیراً فعالیت ضدسرطانی نانوفلورهای هیبریدی ترانس گلوتامیناز میکروبی^۱ (MTGase) گزارش شده است (۹۷). اگرچه MTGase آزاد اثرات سمیت سلولی قابل توجهی را علیه رده سلولی MCF-7 نشان نداد، نانوفلورهای هیبریدی با MTGase توانستند ۸۰ درصد از سلول‌های سرطانی را پس از ۲۴ ساعت از بین ببرند. نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد که نانوفلورهای هیبریدی تشکیل شده در برابر سلول‌های MCF-7 با متوقف کردن رشد سلولی کارآمد هستند. در پژوهشی دیگر، نانوفلورهای هیبریدی مبتنی بر نقاط کربن^۲ برای شناسایی و درمان سلول‌های سرطانی استفاده شدند (۱۰۱). نانوفلورهای هیبریدی فسفات آهن با نقاط کربنی همراه با اسید فولیک برای هدف قرار دادن سلول‌های سرطانی که گیرنده‌های فولات را بیش از حد بیان می‌کنند، سنتز شدند. فعالیت پراکسیدازی فسفات آهن و خواص فلورسنت نقاط کربنی، این نانوفلورهای سنتز شده را برای درمان سلول‌های سرطانی و تصویربرداری فلورسنت مناسب ساخت.

عوامل ضد میکروبی

نانوفلورهای هیبریدی به دلیل فعالیت ضد میکروبی خود بسیار مورد توجه هستند. در مطالعه‌ای، نانوفلورهای هیبریدی مغناطیسی گلوکز اکسیداز (GOx)-فسفات مس با تولید پراکسید هیدروژن پس از اکسیداسیون گلوکز توسط GOx از خود فعالیت ضد میکروبی نشان دادند (۱۰۲). نانوفلورهای سنتز شده توانستند بعد از گذشت ۳ ساعت انکوباسیون در حدود ۹۹ درصد از *استافیلوکوکوس اورتوس* و *شریشیا کلی* را حذف کنند که نشان می‌دهد باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی در برابر نانوفلورهای سنتز شده حساس‌تر هستند. همچنین به‌علت داشتن خاصیت مغناطیسی این نانوفلورهای هیبریدی به راحتی از محیط واکنش جدا شدند و برای ۸ دوره متوالی بدون ازدست دادن فعالیت ضد میکروبی خود مورد استفاده قرار گرفتند (۷۲). علاوه بر این، از نانوفلورهای هیبریدی متشکل از فسفات مس و آلومین به عنوان عامل ضدباکتریایی با

مکانسیم تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS^3) در حضور پراکسید هیدروژن برای بهبود زخم موش استفاده شد. نانوفلورهای هیبریدی تشکیل شده با عصاره ساقه گیلاس، تاویرین و تیمول نیز دارای خواص ضد میکروبی و کاتالیزوری هستند (۱۰۳). پس از ادغام این ترکیبات در نانوفلورهای هیبریدی، فعالیت ضد میکروبی برخی از مواد مانند عصاره‌های گیاهی، کافئین و کورکومین ممکن است بیشتر شود. وجود ساختار متخلخل در نانوفلورهای هیبریدی موجب افزایش سطح برخورد پاتوژن با عوامل ضد میکروبی می‌گردد. در مطالعه‌ای دیگر، فعالیت ضد میکروبی و پراکسیدازی مقلدهای نانوفلورهای هیبریدی کاتکول آمین گزارش شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که نانوفلورهای هیبریدی فسفات مس متشکل از دوپامین، نوراپی نفرین و اپی نفرین قادر به اکسیداسیون $ABTS^4$ در حضور پراکسید هیدروژن بودند (۱۰۴). علاوه بر این، مطالعاتی بر روی سنتز نانوفلورهای هیبریدی با خواص ضد میکروبی انجام گرفته است که طی آن، انواعی از نانوفلورهای هیبریدی با استفاده از عصاره چای سبز (عمدتاً شامل کاتشین و کافئین) سنتز شدند. نانوفلورهای هیبریدی مذکور به دلیل داشتن ویژگی‌هایی مانند خواص باکتریوسیدال نانوذرات، فعالیت ضد میکروبی کاتشین‌های چای و خصوصیات شبه فنتونی نانوفلورها، فعالیت ضد میکروبی مناسبی از خود نشان دادند (۱۰۵).

کاربردهای نانوفلورهای هیبریدی در علوم غیر زیستی

علاوه بر کاربردهای زیستی نانوفلورهای هیبریدی، نقش آن‌ها در حوزه علوم غیر زیستی را نمی‌توان نادیده انگاشت. با وجودی که دسته‌بندی قطعی درباره‌ی این کاربردها وجود ندارد و در بسیاری از موارد با یکدیگر هم‌پوشانی دارند، اما تصویر ۹ نمونه‌ای از کاربردهای غیر علوم زیستی نانوفلورهای هیبریدی را به تصویر کشیده‌است. از جمله کاربرد مشترک نانوفلورهای هیبریدی در زمینه محیط زیست و ساخت حسگرها، تهیه ساختارهای زینک اکساید جهت شناسایی رنگ E110 در منابع آبی محیط زیست بوده‌است این رنگ امروزه

³ Reactive oxygen species

⁴ 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

¹ Microbial transglutaminase

² Quantum dot

وجدانی طلب و همکارانش انجام گرفت پس از حذف زیستی آنتی بیوتیک موکسی فلوکسازین حیات باکتری های گرم مثبت و منفی تا بیش از ۹۰ درصد حفظ شده است (۵۰). همچنین حذف ۹۰ درصدی آنتی بیوتیک جمی فلوکسازین توسط نانوفلورهای فسفات مس و یا رنگ های صنعتی توسط آنزیم های اکسیداز هیچ گونه اثر سمیتی بر باکتری های گرم مثبت و منفی موجود در طبیعت به دنبال نداشته است (۱۱۰، ۱۱۱).

نتیجه گیری

نانوفلورهای هیبریدی از زمان کشف تاکنون مورد توجه بسیاری از محققان در حوزه های گوناگون علمی و صنعتی قرار گرفته اند. طیف وسیعی از مولکول های آلی و فسفات فلزات مختلف در سنتز این ساختارهای هیبریدی شبه گل استفاده می شوند تا با بهره گیری از ویژگی های هر کدام در فرآیندهای ویژه ای به کار روند. در مدت زمان ده سال از شروع مطالعات بر روی نانوفلورها، کاربردهای جدید و متنوعی به خصوص در علوم زیستی از آن ها معرفی شده است؛ اما به نظر می رسد که نانوساختارهای هیبریدی هنوز هم می توانند موضوع بحث و پژوهش علاقه مندان قرار گیرند تا کاربردهای جدیدی از آن ها در زمینه های علمی و زندگی روزمره بشر معرفی شود. به عنوان مثال، می توان به توسعه سیستم های دارورسانی، حسگرهای زیستی، زیست پالایی و غیره اشاره کرد. همچنین، کاربرد نانوفلورها در کاتالیز زیستی واکنش های شیمیایی و تقلید آنزیم ها، مهندسی بافت و طراحی کیت های حساس زیستی و همچنین دستگاه های مرتبط با صنایع زیستی با عملکردهای پیشرفته، سنتزهای مختلف و قابل کنترل و غیره می توانند مورد توجه روز افزون قرار گیرند. بنابراین با گذشت زمان این ساختارهای هیبریدی می توانند جایگزین مناسبی برای بسترهای شیمیایی موجود باشند. اگر چه روش های مختلفی برای ساخت نانوفلورهای هیبریدی پیشنهاد شده است با این حال بنظر می رسد به دلیل زمان کوتاه تر و عدم نیاز به تجهیزات پیشرفته تر روش تغلیظ کردن بر سایر موارد ارجحیت داشته باشد.

به فراوانی در صنایع غذایی و آرایشی بهداشتی استفاده می شود (۱۰۶). همچنین در زمینه الکترونیک و تولید انرژی؛ نانوساختارهای هیبریدی نیکل/آرگون/زینک به عنوان یک الکتروکاتالیزور ایده آل برای ذخیره سازی انرژی معرفی شده اند (۹۰، ۱۰۷).



شکل ۹- کاربردهای رایج نانوفلورها در علوم غیرزیستی.

بر اساس گزارشی که در سال ۲۰۲۱ ارائه شد ساختارهای هیبریدی تهیه شده از اکسید منگنز و گرافن اکساید قدرت کاتالیزوری قابل توجهی را در گوگردزدایی از ترکیباتی مانند نفت سفید، بنزین و گازوئیل نشان دادند (۱۰۸). در مطالعه ای مشابه گوگردزدایی از سوخت های فسیلی با بازدهی نزدیک به ۹۰ درصد و با استفاده از نانوفلورهای هیبریدی بدست آمده از پلیمرهای حاوی نمک های آمونیوم چهارتایی و پلی اکسومتالات های آندرسون انجام گرفت (۱۰۹).

سمیت و زیست سازگاری نانوفلورهای هیبریدی

زیست سازگاری نانوفلورهای هیبریدی را می توان به سمیت هر یک از اجزای سازنده آن یعنی پروتئین، یون های فلزی و بافر فسفات نسبت داد. با این حال در بیشتر مطالعات میزان آزادسازی پروتئین و یون های فلزی و فسفات از ساختارهای تهیه شده بسیار کم و ناچیز بوده است. به طور مثال در مطالعه ای که توسط

تضاد منافع

پژوهش حاضر وجود ندارد.

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافی در

منابع:

- 1- Sreejith S, Huong TTM, Borah P, Zhao Y. Organic-inorganic nanohybrids for fluorescence, photoacoustic and Raman bioimaging. Science bulletin. 2015; 60: 665-78. DOI: [10.1007/s11434-015-0765-4](https://doi.org/10.1007/s11434-015-0765-4)
- 2- Ge J, Lei J, Zare RN. Protein-inorganic hybrid nanoflowers. Nat Nanotechnol. 2012; 7(7): 428-32. DOI: [10.1038/nnano.2012.80](https://doi.org/10.1038/nnano.2012.80)
- 3- Cao X, Shi Y, Shi W, Lu G, Huang X, Yan Q, et al. Preparation of novel 3D graphene networks for supercapacitor applications. Small. 2011; 7(22): 3163-8. DOI: [10.1002/sml.201100990](https://doi.org/10.1002/sml.201100990)
- 4- Jafari-Nodoushan H, Mojtabavi S, Faramarzi MA, Samadi N. Organic-inorganic hybrid nanoflowers: The known, the unknown, and the future. Adv Colloid Interface Sci. 2022; 309:102780. DOI: [10.1016/j.cis.2022.102780](https://doi.org/10.1016/j.cis.2022.102780)
- 5- Cui J, Jia S. Organic-inorganic hybrid nanoflowers: A novel host platform for immobilizing biomolecules. Coord Chem Rev. 2017; 352: 249-63. DOI: [10.1016/j.ccr.2017.09.008](https://doi.org/10.1016/j.ccr.2017.09.008)
- 6- Forootanfar H, Movahednia MM, Yaghmaei S, Tabatabaei-Sameni M, Rastegar H, Sadighi A, et al. Removal of chlorophenolic derivatives by soil isolated ascomycete of *Paraconiothyrium variabile* and studying the role of its extracellular laccase. J Hazard Mater. 2012; 209-210: 199-203. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2012.01.012](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.01.012)
- 7- Tran TD, Kim MI. Organic-inorganic hybrid nanoflowers as potent materials for biosensing and biocatalytic applications. Bio Chip J. 2018; 12: 268-79. DOI: [10.1007/s13206-018-2409-7](https://doi.org/10.1007/s13206-018-2409-7)
- 8- Dube S, Rawtani D. Understanding intricacies of bioinspired organic-inorganic hybrid nanoflowers: A quest to achieve enhanced biomolecules immobilization for biocatalytic, biosensing and bioremediation applications. Adv Colloid Interface Sci. 2021; 295: 102484. DOI: [10.1016/j.cis.2021.102484](https://doi.org/10.1016/j.cis.2021.102484)
- 9- Lee SW, Cheon SA, Kim MI, Park TJ. Organic-inorganic hybrid nanoflowers: types, characteristics, and future prospects. J Nanobiotechnol. 2015; 13: 1-10. DOI: [10.1186/s12951-015-0118-0](https://doi.org/10.1186/s12951-015-0118-0)
- 10- Shcharbin D, Halets-Bui I, Abashkin V, Dzmitruk V, Loznikova S, Odabaşı M, et al. Hybrid metal-organic nanoflowers and their application in biotechnology and medicine. Colloids Surf B Biointerfaces. 2019; 182: 110354. DOI: [10.1016/j.colsurfb.2019.110354](https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110354)
- 11- Wu Z, Li H, Zhu X, Li S, Wang Z, Wang L, et al. Using laccases in the nanoflower to synthesize viniferin. Catalysts. 2017; 7(6): 188. DOI: [10.3390/catal7060188](https://doi.org/10.3390/catal7060188)
- 12- Batule BS, Park KS, Gautam S, Cheon HJ, Kim MI, Park HG. Intrinsic peroxidase-like activity of sonochemically synthesized protein copper nanoflowers and its application for the sensitive detection of glucose. Sens Actuators B. 2019; 283: 749-54. DOI: [10.1016/j.snb.2018.12.028](https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.12.028)
- 13- Zhong L, Feng Y, Wang G, Wang Z, Bilal M, Lv H, et al. Production and use of immobilized lipases in/on nanomaterials: a review from the waste to biodiesel production. Int J Biol Macromol. 2020; 152: 207-22. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2020.02.258](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.258)
- 14- Li Y, Fei X, Liang L, Tian J, Xu L, Wang X, et al. The influence of synthesis conditions on enzymatic activity of enzyme-inorganic hybrid nanoflowers. J Mol Catal B: Enzym. 2016; 133: 92-7. DOI: [10.1016/j.molcatb.2016.08.001](https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2016.08.001)
- 15- Lin Z, Xiao Y, Wang L, Yin Y, Zheng J, Yang H, et al. Facile synthesis of enzyme-inorganic hybrid nanoflowers and their application as an immobilized trypsin reactor for highly efficient protein digestion. RSC adv. 2014; 4: 13888-91. DOI: [10.1039/C4RA00268G](https://doi.org/10.1039/C4RA00268G)
- 16- Zhang M, Yang N, Liu Y, Tang J. Synthesis of catalase-inorganic hybrid nanoflowers via sonication for colorimetric detection of hydrogen peroxide. Enzyme Microb Technol. 2019; 128: 22-5. DOI: [10.1016/j.enzmictec.2019.04.016](https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2019.04.016)

- 17- Lin Z, Xiao Y, Yin Y, Hu W, Liu W, Yang H. Facile synthesis of enzyme-inorganic hybrid nanoflowers and its application as a colorimetric platform for visual detection of hydrogen peroxide and phenol. *ACS applied materials & interfaces*. 2014; 6(13): 10775-82. DOI: [10.1021/am502757e](https://doi.org/10.1021/am502757e)
- 18- Somturk B, Yilmaz I, Altinkaynak C, Karatepe A, Özdemir N, Ocsoy I. Synthesis of urease hybrid nanoflowers and their enhanced catalytic properties. *Enzyme Microb Technol*. 2016; 86: 134-42. DOI: [10.1016/j.enzmictec.2015.09.005](https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2015.09.005)
- 19- He X, Chen L, He Q, Xiao H, Zhou X, Ji H. Cytochrome P450 enzyme-copper phosphate hybrid nano-flowers with superior catalytic performances for selective oxidation of sulfides. *Chin J Chem*. 2017; 35(5): 693-8. DOI: [10.1002/cjoc.201600714](https://doi.org/10.1002/cjoc.201600714)
- 20- Xu Z, Wang R, Liu C, Chi B, Gao J, Chen B, Xu H. A new l-arabinose isomerase with copper ion tolerance is suitable for creating protein-inorganic hybrid nanoflowers with enhanced enzyme activity and stability. *RSC advances*. 2016; 6(37): 30791-4. DOI: [10.1039/C5RA27035A](https://doi.org/10.1039/C5RA27035A)
- 21- Wang L-B, Wang Y-C, He R, Zhuang A, Wang X, Zeng J, et al. A new nanobiocatalytic system based on allosteric effect with dramatically enhanced enzymatic performance. *J Am Chem Soc*. 2013; 135(4): 1272-5. DOI: [10.1021/ja3120136](https://doi.org/10.1021/ja3120136)
- 22- Koley P, Sakurai M, Takei T, Aono M. Facile fabrication of silk protein sericin-mediated hierarchical hydroxyapatite-based bio-hybrid architectures: excellent adsorption of toxic heavy metals and hazardous dye from wastewater. *RSC adv*. 2016; 6(89): 86607-16. DOI: <https://doi.org/10.1039/C6RA12818A>
- 23- Mojtavavi S, Rezayaraghi F, Adelpour T, Kiaei F, Delnavazi MR, Faramarzi MA. Synthesis and characterization of quercetin@Ca₃(PO₄)₂ hybrid nanofibers with antibiofilm properties and antioxidant activity for the deep-frying procedure of sunflower oil. *Food Bioprocess Technol*. 2023; 1-8. DOI: [10.1007/s11947-023-03053-w](https://doi.org/10.1007/s11947-023-03053-w)
- 24- Wang A, Chen X, Yu J, Li N, Li H, Yin Y, et al. Green preparation of lipase@Ca₃(PO₄)₂ hybrid nanoflowers using bone waste from food production for efficient synthesis of clindamycin palmitate. *J Industr Eng Chem*. 2020; 89: 383-91. DOI: [10.1016/j.jiec.2020.06.007](https://doi.org/10.1016/j.jiec.2020.06.007)
- 25- Yang H, He P, Yin Y, Mao Z, Zhang J, Zhong C, Xie T, Wang A. Succinic anhydride-based chemical modification making laccase@Cu₃(PO₄)₂ hybrid nanoflowers robust in removing bisphenol A in wastewater. *Bioprocess Biosyst Eng*. 2021; 44(10): 2061-73. DOI: [10.1007/s00449-021-02583-x](https://doi.org/10.1007/s00449-021-02583-x)
- 26- Soni S, Dwivedee BP, Banerjee UC. An Ultrafast Sonochemical Strategy to Synthesize Lipase-Manganese Phosphate Hybrid Nanoflowers with Promoted Biocatalytic Performance in the Kinetic Resolution of β-Aryloxyalcohols. *ChemNanoMat*. 2018; 4(9): 1007-20. DOI: [10.1002/cnma.201800250](https://doi.org/10.1002/cnma.201800250)
- 27- Zhang Z, Zhang Y, Song R, Wang M, Yan F, He L, et al. Manganese (II) phosphate nanoflowers as electrochemical biosensors for the high-sensitivity detection of ractopamine. *Sens. Actuators B Chem*. 2015; 211: 310-7. DOI: [10.1016/j.snb.2015.01.106](https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.01.106)
- 28- Zhang Z, Zhang Y, He L, Yang Y, Liu S, Wang M, et al. A feasible synthesis of Mn₃(PO₄)₂@ BSA nanoflowers and its application as the support nanomaterial for Pt catalyst. *J Power Sources*. 2015; 284: 170-7. DOI: [10.1016/j.jpowsour.2015.03.011](https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2015.03.011)
- 29- Rai SK, Kaur H, Kauldhar BS, Yadav SK. Dual-enzyme metal hybrid crystal for direct transformation of whey lactose into a high-value rare sugar D-tagatose: synthesis, characterization, and a sustainable process. *ACS Biomater Sci Eng*. 2020; 6(12): 6661-70. DOI: [10.1021/acsbiomaterials.0c00841](https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.0c00841)
- 30- Gao J, Liu H, Tong C, Pang L, Feng Y, Zuo M, Wei Z, Li J. Hemoglobin- Mn₃(PO₄)₂ hybrid nanoflower with opulent electroactive centers for high-performance hydrogen peroxide electrochemical biosensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2020; 307: 127628. DOI: [10.1016/j.snb.2019.127628](https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127628)
- 31- Shahwan T, Sirriah SA, Nairat M, Boyacı E, Eroğlu AE, Scott TB, et al. Green synthesis of iron nanoparticles and their application as a Fenton-like catalyst for the degradation of aqueous cationic and anionic dyes. *Chem Eng J*. 2011; 172(1): 258-66. DOI: [10.1016/j.cej.2011.05.103](https://doi.org/10.1016/j.cej.2011.05.103)

- 32- Guo J, Wang Y, Zhao M. A self-activated nanobiocatalytic cascade system based on an enzyme-inorganic hybrid nanoflower for colorimetric and visual detection of glucose in human serum. *Sens. Actuators B Chem.* 2019; 284: 45-54. DOI: [10.1016/j.snb.2018.12.102](https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.12.102)
- 33- Ocsoy I, Dogru E, Usta S. A new generation of flowerlike horseradish peroxidases as nanobiocatalyst for superior enzymatic activity. *Enzyme Microb Technol.* 2015; 75-76: 25-9. DOI: [10.1016/j.enzmictec.2015.04.010](https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2015.04.010)
- 34- Sharma N, Parhizkar M, Cong W, Mateti S, Kirkland MA, Puri M, et al. Metal ion type significantly affects the morphology but not the activity of lipase-metal-phosphate nanoflowers. *RSC Adv.* 2017; 7: 25437-43. URL: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2017/ra/c7ra00302a>
- 35- Zhang B, Li P, Zhang H, Fan L, Wang H, Li X, et al. Papain/Zn₃(PO₄)₂ hybrid nanoflower: preparation, characterization and its enhanced catalytic activity as an immobilized enzyme. *RSC Adv.* 2016; 6(52): 46702-10. DOI: <https://doi.org/10.1039/C6RA05308D>
- 36- Zhang B, Li P, Zhang H, Wang H, Li X, Tian L, et al. Preparation of lipase/Zn₃(PO₄)₂ hybrid nanoflower and its catalytic performance as an immobilized enzyme. *Chem Eng J.* 2016; 291: 287-97. DOI: [10.1016/j.cej.2016.01.104](https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.01.104)
- 37- López-Gallego F, Yate L. Selective biomineralization of Co₃(PO₄)₂-sponges triggered by His-tagged proteins: efficient heterogeneous biocatalysts for redox processes. *Chem. Commun.* 2015; 51(42): 8753-6. DOI: [10.1039/C5CC00318K](https://doi.org/10.1039/C5CC00318K)
- 38- Kim KH, Jeong J-M, Lee SJ, Choi BG, Lee KG. Protein-directed assembly of cobalt phosphate hybrid nanoflowers. *J Colloid Interface Sci.* 2016; 484: 44-50. DOI: [10.1016/j.jcis.2016.08.059](https://doi.org/10.1016/j.jcis.2016.08.059)
- 39- Wang S, Ding Y, Chen R, Hu M, Li S, Zhai Q, et al. Multilayer petal-like enzymatic-inorganic hybrid microspheres [CPO-(Cu/Co/Cd)₃(PO₄)₂] with high bio-catalytic activity. *Chem Eng Res Des.* 2018; 134: 52-61. DOI: [10.1016/j.cherd.2018.03.036](https://doi.org/10.1016/j.cherd.2018.03.036)
- 40- Li C, Zhao J, Zhang Z, Jiang Y, Bilal M, Jiang Y, et al. Self-assembly of activated lipase hybrid nanoflowers with superior activity and enhanced stability. *Biochem Eng J.* 2020; 158: 107582. DOI: [10.1016/j.bej.2020.107582](https://doi.org/10.1016/j.bej.2020.107582)
- 41- Chen J, Guo Z, Xin Y, Shi Y, Li Y, Gu Z, et al. Preparation of efficient, stable, and reusable copper-phosphotriesterase hybrid nanoflowers for biodegradation of organophosphorus pesticides. *Enzym Microb Technol.* 2021; 146: 109766. DOI: [10.1016/j.enzmictec.2021.109766](https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2021.109766)
- 42- Batule B, Park K, Kim M, Park H. Ultrafast sonochemical synthesis of protein-inorganic nanoflowers. *Int J Nanomedicine.* 2015; 10(Spec Iss): 137-42. DOI: [10.2147/IJN.S90274](https://doi.org/10.2147/IJN.S90274)
- 43- Chung M, Nguyen TL, Tran TQN, Yoon HH, Kim IT, Kim M. Ultrarapid sonochemical synthesis of enzyme-incorporated copper nanoflowers and their application to mediatorless glucose biofuel cell. *Appl Surf Sci.* 2018; 429: 203-9. DOI: [10.1016/j.apsusc.2017.06.242](https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.06.242)
- 44- Gulmez C, Altinkaynak C, Ozturkler M, Ozdemir N, Atakisi O. Evaluating the activity and stability of sonochemically produced hemoglobin-copper hybrid nanoflowers against some metallic ions, organic solvents, and inhibitors. *J Biosci Bioeng.* 2021; 132(4): 327-36. DOI: [10.1016/j.jbiosc.2021.06.002](https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2021.06.002)
- 45- Ke C, Fan Y, Chen Y, Xu L, Yan Y. A new lipase-inorganic hybrid nanoflower with enhanced enzyme activity. *RSC Adv.* 2016; 6: 19413-6. DOI: [10.1039/C6RA01564F](https://doi.org/10.1039/C6RA01564F)
- 46- Jadhav RW, La DD, More VG, Tung Vo H, Nguyen DA, Tran DL, et al. Self-assembled kanamycin antibiotic-inorganic microflowes and their application as a photocatalyst for the removal of organic dyes. *Sci Rep.* 2020; 10: 154. DOI: [10.1038/s41598-019-57044-z](https://doi.org/10.1038/s41598-019-57044-z)
- 47- Luo Y-K, Song F, Wang X-L, Wang Y-Z. Pure copper phosphate nanostructures with controlled growth: a versatile support for enzyme immobilization. *CrystEngComm.* 2017; 19: 2996-3002. DOI: [10.1039/C7CE00466D](https://doi.org/10.1039/C7CE00466D)
- 48- Gao L, He Q, Xing J, Ge Z. Removal of doxorubicin by magnetic copper phosphate nanoflowers for individual urine source separation. *Chemosphere.* 2020; 238: 124690. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2019.124690](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124690)
- 49- Carey AB, Cai W, Gibson CT, Raston CL, Luo X. Shear stress-mediated growth of cupric phosphate nanostructures. *Crystal Growth & Design* 2021; 21: 4579-86. DOI: [10.1021/acs.cgd.1c00453](https://doi.org/10.1021/acs.cgd.1c00453)

- 50- Vojdanitalab K, Jafari-Nodoushan H, Mojtavavi S, Shokri M, Jahandar H, Faramarzi MA. Instantaneous synthesis and full characterization of organic–inorganic laccase-cobalt phosphate hybrid nanoflowers. *Sci Rep.* 2022; 12(1): 9297. DOI: [10.1038/s41598-022-13490-w](https://doi.org/10.1038/s41598-022-13490-w)
- 51- Kiani M, Mojtavavi S, Jafari-Nodoushan H, Tabib SR, Hassannejad N, Faramarzi MA. Fast anisotropic growth of the biomineralized zinc phosphate nanocrystals for a facile and instant construction of laccase@Zn₃(PO₄)₂ hybrid nanoflowers. *Int J Biol Macromol.* 2022; 204: 520-31. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2022.02.023](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.02.023)
- 52- Singh P, Kim YJ, Wang C, Mathiyalagan R, Yang DC. Microbial synthesis of flower-shaped gold nanoparticles. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2016; 44(6): 1469-74. DOI: [10.3109/21691401.2015.1041640](https://doi.org/10.3109/21691401.2015.1041640)
- 53- Lakkakula JR, Matshaya T, Krause RWM. Cationic cyclodextrin/alginate chitosan nanoflowers as 5-fluorouracil drug delivery system. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2017; 70(Pt 1): 169-77. DOI: [10.1016/j.msec.2016.08.073](https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.08.073)
- 54- Bilal M, Asgher M, Shah SZH, Iqbal HM. Engineering enzyme-coupled hybrid nanoflowers: The quest for optimum performance to meet biocatalytic challenges and opportunities. *Int J Biol Macromol.* 2019; 135: 677-90. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2019.05.206](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.206)
- 55- Jiang W, Wang X, Yang J, Han H, Li Q, Tang J. Lipase-inorganic hybrid nanoflower constructed through biomimetic mineralization: a new support for biodiesel synthesis. *J Colloid Interface Sci.* 2018; 514: 102–7. DOI: [10.1016/j.jcis.2017.12.025](https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.12.025)
- 56- Bilal M, Fernandes CD, Mehmood T, Nadeem F, Tabassam Q, Ferreira LF. Immobilized lipases-based nano-biocatalytic systems—A versatile platform with incredible biotechnological potential. *Int J Biol Macromol.* 2021; 175: 108–22. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2021.02.010](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.02.010)
- 57- Zhang Y, Sun W, Elfeky NM, Wang Y, Zhao D, Zhou H, et al. Self-assembly of lipase hybrid nanoflowers with bifunctional Ca²⁺ for improved activity and stability. *Enzyme Microb Technol.* 2020; 132: 109408. DOI: [10.1016/j.enzmictec.2019.109408](https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2019.109408)
- 58- Feng N, Zhang H, Li Y, Liu Y, Xu L, Wang Y, et al. A novel catalytic material for hydrolyzing cow's milk allergenic proteins: papain-Cu₃(PO₄)₂·3H₂O-magnetic nanoflowers. *Food Chem.* 2020; 311: 125911. DOI: [10.1016/j.foodchem.2019.125911](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125911)
- 59- Guimarães JR, Carballares D, Rocha-Martin J, Tardioli PW, Fernandez-Lafuente R. Stabilization of immobilized lipases by treatment with metallic phosphate salts. *Int J Biol Macromol.* 2022; 213: 43–54. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2022.05.167](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.05.167)
- 60- Talens-Perales D, Fabra MJ, Martínez-Argente L, Marín-Navarro J, Polaina J. Recyclable thermophilic hybrid protein-inorganic nanoflowers for the hydrolysis of milk lactose. *Int J Biol Macromol.* 2020; 151: 602-8. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2020.02.115](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.115)
- 61- Routoula E, Patwardhan SV. Degradation of anthraquinone dyes from effluents: a review focusing on enzymatic dye degradation with industrial potential. *Environ Sci Technol.* 2020; 54(2): 647–64. DOI: [10.1021/acs.est.9b03737](https://doi.org/10.1021/acs.est.9b03737)
- 62- Altinkaynak C, Tavlasoglu S, Kalin R, Sadeghian N, Ozdemir H, Ocsoy I, et al. A hierarchical assembly of flower-like hybrid Turkish black radish peroxidase-Cu²⁺ nanobiocatalyst and its effective use in dye decolorization. *Chemosphere.* 2017; 182: 122–8. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2017.05.012](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.012)
- 63- Fu M, Xing J, Ge Z. Preparation of laccase-loaded magnetic nanoflowers and their recycling for efficient degradation of bisphenol A. *Sci Total Environ.* 2019; 651(Pt 2): 2857–65. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2018.10.145](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.145)
- 64- Zhang L, Ma Y, Wang C, Wang Z, Chen X, Li M, et al. Application of dual-enzyme nanoflower in the epoxidation of alkenes. *Process Biochem.* 2018; 74: 103-7. DOI: [10.1016/j.procbio.2018.08.029](https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.08.029)
- 65- Zhong L, Feng Y, Hu H, Xu J, Wang Z, Du Y, et al. Enhanced enzymatic performance of immobilized lipase on metal organic frameworks with superhydrophobic coating for biodiesel production. *J Colloid Interface Sci.* 2021; 602: 426–36. DOI: [10.1016/j.jcis.2021.06.017](https://doi.org/10.1016/j.jcis.2021.06.017)

- 66- Somturk B, Hancer M, Ocsoy I, Ozdemir N. Synthesis of copper ion incorporated horseradish peroxidase-based hybrid nanoflowers for enhanced catalytic activity and stability. *Dalton Trans.* 2015; 44: 13845–52. DOI: [10.1039/C5DT01250C](https://doi.org/10.1039/C5DT01250C)
- 67- Altinkaynak C, Yilmaz I, Koksall Z, Ozdemir H, Ocsoy I, Ozdemir N. Preparation of lactoperoxidase incorporated hybrid nanoflower and its excellent activity and stability. *Int J Biol Macromol.* 2016; 84: 402–9. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2015.12.018](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.12.018)
- 68- Bu S, Wang K, Ju C, Han Y, Li Z, Du P, et al. A pregnancy test strip for detection of pathogenic bacteria by using concanavalin A-human chorionic gonadotropin- $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$ hybrid nanoflowers, magnetic separation, and smartphone readout. *Microchim Acta.* 2018; 185(10): 464. DOI: [10.1007/s00604-018-2968-2](https://doi.org/10.1007/s00604-018-2968-2)
- 69- Sun J, Ge J, Liu W, Lan M, Zhang H, Wang P, et al. Multi-enzyme co-embedded organic–inorganic hybrid nanoflowers: synthesis and application as a colorimetric sensor. *Nanoscale.* 2014; 6(1): 255–62. DOI: [10.1039/C3NR04425D](https://doi.org/10.1039/C3NR04425D)
- 70- Wang C, Tan R, Wang Q. One-step synthesized flower-like materials used for sensitively detecting amyloid precursor protein. *Anal Bioanal Chem.* 2018; 410(26): 6901–9. DOI: [10.1007/s00216-018-1293-2](https://doi.org/10.1007/s00216-018-1293-2)
- 71- Girigoswami A, Ramalakshmi M, Akhtar N, Metkar SK, Girigoswami K. ZnO Nanoflower petals mediated amyloid degradation-An in vitro electrokinetic potential approach. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2019; 101: 169–78. DOI: [10.1016/j.msec.2019.03.086](https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.03.086)
- 72- Lei Y-M, Zhou J, Chai Y-Q, Zhuo Y, Yuan R. SnS_2 quantum dots as new emitters with strong electrochemiluminescence for ultrasensitive antibody detection. *Anal Chem.* 2018; 90(20): 12270–7. DOI: [10.1021/acs.analchem.8b03623](https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b03623)
- 73- Arduini F, Cinti S, Scognamiglio V, Moscone D. Nanomaterials in electrochemical biosensors for pesticide detection: advances and challenges in food analysis. *Mikrochim. Acta.* 2016; 183(7): 2063–83. DOI: [10.1007/s00604-016-1858-8](https://doi.org/10.1007/s00604-016-1858-8)
- 74- Piro B, Reisberg S. Recent advances in electrochemical immunosensors. *Sensors.* 2017; 17(4): 794. DOI: [10.3390/s17040794](https://doi.org/10.3390/s17040794)
- 75- Pandey CM, Sumana G, Tiwari I. Nanostructuring of hierarchical 3D cystine flowers for high-performance electrochemical immunosensor. *Biosens Bioelectron.* 2014; 61: 328–35. DOI: [10.1016/j.bios.2014.05.015](https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.05.015)
- 76- Fang Y, Wang S, Liu Y, Xu Z, Zhang K, Guo Y. Development of Cu nanoflowers modified the flexible needle-type microelectrode and its application in continuous monitoring glucose in vivo. *Biosens Bioelectron.* 2018; 110: 44–51. DOI: [10.1016/j.bios.2018.03.024](https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.03.024)
- 77- Y. Li, G. Xie, J. Qiu, D. Zhou, D. Gou, Y. Tao, Y. Li, H. Chen, A new biosensor based on the recognition of phages and the signal amplification of organic-inorganic hybrid nanoflowers for discriminating and quantitating live pathogenic bacteria in urine. *Sensors Actuators, B Chem.* 2018; 258: 803–12. DOI: [10.1016/j.snb.2017.11.155](https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.11.155)
- 78- Mojtavavi S, Khoshayand MR, Fazeli MR, Samadi N, Faramarzi MA. Combination of thermal and biological treatments for bio-removal and detoxification of some recalcitrant synthetic dyes by betaine-induced thermostabilized laccase. *Environ Technol Innov.* 2020; 20: 101046. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101046>
- 79- Park KS, Batule BS, Chung M, Kang KS, Park TJ, Kim MI, et al. A simple and eco-friendly one-pot synthesis of nuclease-resistant DNA–inorganic hybrid nanoflowers. *J Mater Chem B.* 2017; 5(12): 2231–4. DOI: [10.1039/c6tb03047e](https://doi.org/10.1039/c6tb03047e)
- 80- Wu T, Yang Y, Cao Y, Song Y, Xu L-P, Zhang X, et al. Bioinspired DNA–inorganic hybrid nanoflowers combined with a personal glucose meter for onsite detection of miRNA. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2018; 10(49): 42050–7. DOI: [10.1021/acsami.8b15917](https://doi.org/10.1021/acsami.8b15917)
- 81- Yilmaz E, Ocsoy I, Ozdemir N, Soylak M. Bovine serum albumin-Cu (II) hybrid nanoflowers: An effective adsorbent for solid phase extraction and slurry sampling flame atomic absorption spectrometric analysis of cadmium and lead in water, hair, food and cigarette samples. *Anal Chim Acta.* 2016; 906: 110–7. DOI: [10.1016/j.aca.2015.12.001](https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.12.001)

- 82- Jin Y, Li Z, Liu H, Chen S, Wang F, Wang L, et al. Biodegradable, multifunctional DNAzyme nanoflowers for enhanced cancer therapy. *NPG Asia Mater.* 2017; 9: e365-e. DOI: [10.1038/am.2017.34](https://doi.org/10.1038/am.2017.34)
- 83- Celik C, Ildiz N, Ocsoy I. Building block and rapid synthesis of catecholamines-inorganic nanoflowers with their peroxidase-mimicking and antimicrobial activities. *Sci Rep.* 2020; 10(1): 2903. DOI: [10.1038/s41598-020-59699-5](https://doi.org/10.1038/s41598-020-59699-5)
- 84- Hu R, Zhang X, Zhao Z, Zhu G, Chen T, Fu T, et al. DNA nanoflowers for multiplexed cellular imaging and traceable targeted drug delivery. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2014; 53(23): 5821-6. DOI: [10.1002/anie.201400323](https://doi.org/10.1002/anie.201400323)
- 85- Cheng H, Hong S, Wang Z, Sun N, Wang T, Zhang Y, et al. Self-assembled RNAi nanoflowers via rolling circle transcription for aptamer-targeted siRNA delivery. *J Mater Chem B.* 2018; 6: 4638-44. DOI: <https://doi.org/10.1039/C8TB00758F>
- 86- Röthlisberger P, Hollenstein M. Aptamer chemistry. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018; 134: 3-21. DOI: [10.1016/j.addr.2018.04.007](https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.04.007)
- 87- Ni Q, Zhang F, Zhang Y, Zhu G, Wang Z, Teng Z, et al. In situ shRNA synthesis on DNA-poly lactide nanoparticles to treat multidrug resistant breast cancer. *Adv Mater.* 2018; 30(10): 1705737. DOI: [10.1002/adma.201705737](https://doi.org/10.1002/adma.201705737)
- 88- Hao Y, Li H, Cao Y, Chen Y, Lei M, Zhang T, et al. Uricase and horseradish peroxidase hybrid CaHPO₄ nanoflower integrated with transcutaneous patches for treatment of hyperuricemia. *J Biomed Nanotechnol.* 2019; 15(5): 951-65. DOI: [10.1166/jbn.2019.2752](https://doi.org/10.1166/jbn.2019.2752)
- 89- Xiao Z, Xu C, Jiang X, Zhang W, Peng Y, Zou R, et al. Hydrophilic bismuth sulfur nanoflower superstructures with an improved photothermal efficiency for ablation of cancer cells. *Nano Res.* 2016; 9(7): 1934-47. DOI: [10.1007/s12274-016-1085-y](https://doi.org/10.1007/s12274-016-1085-y)
- 90- Ye J, Zhai X, Chen L, Guo W, Gu T, Shi Y, et al. Oxygen vacancies enriched nickel cobalt based nanoflower cathodes: Mechanism and application of the enhanced energy storage. *J Energy Chem.* 2021; 62: 252-61. DOI: [10.1016/j.ijechem.2021.03.030](https://doi.org/10.1016/j.ijechem.2021.03.030)
- 91- Cheng N, Song Y, Shi Q, Du D, Liu D, Luo Y, et al. Au@ Pd nanopopcorn and aptamer nanoflower assisted lateral flow strip for thermal detection of exosomes. *Anal Chem.* 2019; 91(21): 13986-93. DOI: [10.1021/acs.analchem.9b03562](https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b03562)
- 92- Yin T, Li Y, Bian K, Zhu R, Liu Z, Niu K, et al. Self-assembly synthesis of vapreotide-gold hybrid nanoflower for photothermal antitumor activity. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2018; 93: 716-23. DOI: [10.1016/j.msec.2018.08.017](https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.08.017)
- 93- Jiang T, Yin N, Liu L, Song J, Huang Q, Zhu L, et al. A Au nanoflower@ SiO₂@ CdTe/CdS/ZnS quantum dot multi-functional nanoprobe for photothermal treatment and cellular imaging. *RSC Adv.* 2014; 4(45): 23630-6. DOI: [10.1039/c4ra02965h](https://doi.org/10.1039/c4ra02965h)
- 94- Sun G, Yang S, Cai H, Shu Y, Han Q, Wang B, et al. Molybdenum disulfide nanoflowers mediated anti-inflammation macrophage modulation for spinal cord injury treatment. *J Colloid Interface Sci.* 2019; 549: 50-62. DOI: [10.1016/j.jcis.2019.04.047](https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.04.047)
- 95- Ahn S, Singh P, Jang M, Kim Y-J, Castro-Aceituno V, Simu SY, et al. Gold nanoflowers synthesized using Acanthopanax cortex extract inhibit inflammatory mediators in LPS-induced RAW264 7 macrophages via NF-κB and AP-1 pathways. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2018; 162:423-428. DOI: [10.1016/j.colsurfb.2017.09.053](https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.09.053)
- 96- Yan T, Cheng F, Wei X, Huang Y, He J. Biodegradable collagen sponge reinforced with chitosan/calcium pyrophosphate nanoflowers for rapid hemostasis. *Carbohydr Polym.* 2017; 170: 271-80. DOI: [10.1016/j.carbpol.2017.04.080](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.04.080)
- 97- Fatima SW, Imtiyaz K, Rizvi MMA, Khare SK. Microbial transglutaminase nanoflowers as an alternative nanomedicine for breast cancer theranostics. *RSC adv.* 2021; 11(55): 34613-30. DOI: [10.1039/d1ra04513j](https://doi.org/10.1039/d1ra04513j)
- 98- Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol.* 2010; 11(5): 373-84. DOI: [10.1038/ni.1863](https://doi.org/10.1038/ni.1863)

- 99- Yu H, Lee H, Herrmann A, Buettner R, Jove R. Revisiting STAT3 signalling in cancer: new and unexpected biological functions. *Nat Rev Cancer*. 2014; 14(11): 736-46. DOI: [10.1038/nrc3818](https://doi.org/10.1038/nrc3818)
- 100- Zhu G, Mei L, Vishwasrao HD, Jacobson O, Wang Z, Liu Y, et al. Intertwining DNA-RNA nanocapsules loaded with tumor neoantigens as synergistic nanovaccines for cancer immunotherapy. *Nat Commun*. 2017; 8(1): 1482. DOI: [10.1038/s41467-017-01386-7](https://doi.org/10.1038/s41467-017-01386-7)
- 101- Guo J, Wang Y, Zhao M. Target-directed functionalized ferrous phosphate-carbon dots fluorescent nanostructures as peroxidase mimetics for cancer cell detection and ROS-mediated therapy. *Sens Actuators B Chem*. 2019; 297: 126739. DOI: [10.1016/j.snb.2019.126739](https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.126739)
- 102- Lee I, Cheon HJ, Adhikari MD, Tran TD, Yeon K-M, Kim MI, et al. Glucose oxidase-copper hybrid nanoflowers embedded with magnetic nanoparticles as an effective antibacterial agent. *Int J Biol Macromol*. 2020; 155: 1520-31. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2019.11.129](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.129)
- 103- Koca FD. Preparation of thymol incorporated organic-inorganic hybrid nanoflowers as a novel fenton agent with intrinsic catalytic and antimicrobial activities. *Inorg Nano-Met Chem*. 2022; 52(2): 322-7. URL: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/24701556.2021.1980024?journalCode=lsrt21>
- 104- Celik C, Ildiz N, Ocoy I. Building block and rapid synthesis of catecholamines-inorganic nanoflowers with their peroxidase-mimicking and antimicrobial activities. *Sci Rep*. 2020; 10(1): 2903. DOI: [10.1038/s41598-020-59699-5](https://doi.org/10.1038/s41598-020-59699-5)
- 105- Baldemir A, Kose NB, Ildiz N, 'Ilgün S, Yusufbeyoğlu S, Yilmaz V, et al. Synthesis and characterization of green tea (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) extract and its major components-based nanoflowers: a new strategy to enhance antimicrobial activity. *RSC Adv*. 2017; 7: 44303–8. DOI: [10.1039/C7RA07618E](https://doi.org/10.1039/C7RA07618E)
- 106- Guo W, Gu Y, Bao J, Wang B, Wu D, Li Y, Lu L. Composition-tunable synthesis of Pt-Cu dendritic nanomaterials by ultrasound-assisted approach for highly efficient methanol oxidation. *Mater Lett*. 2023; 335: 133778. DOI: [10.1016/j.matlet.2022.133778](https://doi.org/10.1016/j.matlet.2022.133778)
- 107- Emami S, Foroumadi A, Faramarzi MA, Samadi N. Synthesis and antibacterial activity of quinolone-based compounds containing a coumarin moiety. *Arch Pharm*. 2008; 341(1): 42-8. DOI: [10.1002/ardp.200700090](https://doi.org/10.1002/ardp.200700090)
- 108- Ahmad W, Ur Rahman A, Ahmad I, Yaseen M, Mohamed Jan B, Stylianakis et al. Oxidative desulfurization of petroleum distillate fractions using manganese dioxide supported on magnetic reduced graphene oxide as catalyst. *Nanomaterials*. 2021; 11(1): 203. DOI: [10.3390/nano11010203](https://doi.org/10.3390/nano11010203)
- 109- Zhang L, Song S, Yang N, Tantai X, Xiao X, Jiang B, Sun Y. Porous hybrid nanoflower self-assembled from polyoxometalate and polyionene for efficient oxidative desulfurization. *Ind Eng Chem Res*. 2019; 58(9): 3618–29. DOI: [10.1021/acs.iecr.8b05905](https://doi.org/10.1021/acs.iecr.8b05905)
- 110- Rezayaraghi F, Jafari-Nodoushan H, Mojtabavi S, Golshani S, Jahandar H, Faramarzi MA. Hybridization of laccase with dendrimer-grafted silica-coated hercynite-copper phosphate magnetic hybrid nanoflowers and its application in bioremoval of gemifloxacin. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2022; 29(59): 89255–72. DOI: [10.1007/s11356-022-21959-4](https://doi.org/10.1007/s11356-022-21959-4)
- 111- Mojtabavi S, Khoshayand MR, Fazeli MR, Samadi N, Faramarzi MA. Combination of thermal and biological treatments for bio-removal and detoxification of some recalcitrant synthetic dyes by betaine-induced thermostabilized laccase. *Environ Technol Innovation*. 2020; 20: 101046. DOI: [10.1016/j.eti.2020.101046](https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101046)