Medical Science Journal of Islamic Azad University Vol. 34, No. 3, Autumn 2024 **ORIGINAL ARTICLE**

Investigating the application of graphene quantum dots doped with heteroatoms as a contrast agent in magnetic resonance imaging system

Morteza Mollazadeh [1], Farshid Babapour Mofrad[2], Ashraf Fakhari [3], Ali Jamali Nazari[4], Tohid Mortazazadeh[5]

[1] *Ph.D. Student of Department of Medical Radiation Engineering, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*

[2] *Associate Professor, Department of Medical Radiation Engineering, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*

[3] *Assistant Professor, Department of Nuclear Medicine, Faculty of Medical Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*

[4] *Assistant Professor, Department of Engineering, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood Branch, Shahrood, Iran*

[5] *Assistant Professor, Department of Medical Physics, Faculty of Medical Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-01-31]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1403.34.3.4.7]

[DOI: 10.61186/iau.34.3.245]

Abstract

Background: Contrast agents used in MRI are mostly based on metallic elements such as gadolinium and are toxic.The present study aims to prepare a non-metallic and non-toxic nanoparticle based on quantum data carbon, which can be used as a non-metallic and non-toxic contrast agent in MRI.

Materials and methods: The cytotoxicity of nanoparticles (PN-GQDOTs) against MCF-7 and MCF-10A cells was investigated using the MTT method. The value of longitudinal relaxation r_1 in the phantom model was calculated using MRI imaging with spin-echo protocol. The ability of nanoparticles to penetrate into cancer cells was determined using MRI imaging.

Results: Cytotoxicity assay results showed no significant decrease in cell viability with different concentrations of NPs for the incubation period of 24 hours. With MRI imaging in the phantom environment, r_1=4.49 was obtained for the synthesized nanoparticle, which was a significant increase compared to the dotarem material (r_1=2.54).The results of animal imaging showed the ability of nanoparticles to create a difference in the contrast of the images before and after the injection of the contrast agent.

Conclusion: The results exhibited low cytotoxicity of the PN-GQDOTs nanoparticles in the given concentration range,which is essential for MRI imaging and further biological *in vitro* and *in vivo* applications.According to the results of the animal study, these nanoparticles can be considered as a positive and non-toxic contrast agent, which minimizes the concern about the toxicity of this medical system due to the absence of metal compounds in the structure of this compound.

Keywords: *Graphene quantum dots, MRI, Cytotoxicity.*

Cited as: Mollazadeh M, Babapour Mofrad F, Fakhari A, Jamali Nazari A, Mortazazadeh T. Investigating the application of graphene quantum dots doped with heteroatoms as a contrast agent in magnetic resonance imaging system. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2024; 34(3): **245-254.**

Correspondence to: Farshid Babapour Mofrad
Tel: *+98 09121442360*
E-mail: Babapour@srbiau.ac.ir
ORCID ID: 0000-0002-5892-7971
Received: 14 Oct 2023; **Accepted:** 20 Jan 2024

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۳۴، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، صفحات ۲۴۵ تا ۲۵۴

Original Article

بررسی کاربرد نقاط کوانتمی گرافنی دوپه شده با هیترواتم‌ها به عنوان عامل کنتراست زا در سیستم تصویربرداری تشدید مغناطیسی

مرتضی ملازاده[۱]، فرشید باباپور مفرد[۲]، اشرف فخاری[۳]، علی جمالی نظری[۴]، توحید مرتضی زاده[۵]

[۱]دانشجوی دکترای مهندسی پرتوپزشکی، دانشکده فنی و مهندسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۲]دانشیار، گروه مهندسی پرتوپزشکی، دانشکده فنی و مهندسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۳]استادیار، گروه طب هسته ای، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[۴]استادیار، گروه مهندسی پزشکی، دانشکده فنی و مهندسی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران
[۵]استادیار، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *عوامل کنتراست زای مورد استفاده درMRI اکثرا بر پایه عناصر فلزی مانند گادولنیوم بوده و سمی هستند. مطالعه حاضر با هدف تهیه نانوذره ای غیرفلزی و غیرسمی بر پایه کربن کوانتوم داتها بود که می تواند به عنوان یک عامل کنتراست غیرفلزی و غیرسمی در MRI مورد استفاده قرار گیرد.*

روش بررسی: *سمیت سلولی نانوذرات(PN-GQDOTs) در برابر سلولهای MCF-7و MCF-10Aبا استفاده از روش MTT بررسی شد. مقدار آسودگی طولیr1 در مدل فانتوم با استفاده از تصویربرداری MRI با پروتکل اسپین- اکو، محاسبه شد. توانایی نفوذ نانوذرات به داخل سلولهای سرطانی با استفاده از تصویربرداری MRI انجام گرفت.*

یافته‌ها: *نتایج سنجش سمیت سلولی نشان دهنده هیچ کاهش معنی داری در میزان زنده ماندن سلول با غلظت های مختلف NPs برای مدت زمان انکوباسیون ۲۴ ساعت نبود. با تصویربرداری MRI در محیط فانتوم مقدارr1=4/49 برای نانوذره سنتز شده به دست آمد که نسبت به ماده دوتارم (r1=2/54) افزایش قابل توجهی داشت. نتایج تصویربرداری حیوانی توانایی نانوذرات برای ایجاد اختلاف در کنتراست تصاویر قبل و بعد از تزریق ماده کنتراست زا را نشان داد.*

نتیجه‌گیری: *نتایج نشان داد که نانوذرات (PN-GQDOTs) سمیت سلولی کمی در محدوده غلظت مورد بررسی دارند، که برای تصویربرداری MRI و کاربردهای بیولوژیکی در شرایط آزمایشگاهی و درون تنی ضروری است. با توجه به نتایج مطالعه حیوانی این نانوذرات می توانند به عنوان یک ماده کنتراست زای مثبت و غیرسمی مورد توجه قرار گیرند که به دلیل عدم وجود ترکیبات فلزی در ساختار این ترکیب، نگرانی در مورد سمیت این سامانه دارویی به حداقل می رسد.*

واژگان کلیدی: *نقاط کوانتمی گرافنی، MRI، سمیت سلولی.*

مقدمه

امروزه تصویربرداری مولکولی به سرعت گسترش یافته و نقش اساسی در بخش پژوهشی و کاربردی علوم زیستی دارد. تصویربرداری مولکولی حدفاصل علوم زیستی و فیزیک است و نگاهی جدید به تحقیقات بیومدیکال به منظور مشاهده و مانتیورینگ پروسه‌های بیولوژی در سلول‌ها، بافت‌ها و ارگانیسم‌ها با استفاده از مدالیته‌های حساس و دقیق و همچنین مکانیسمهای کنتراست زایی هست که به تشخیص

آدرس نویسنده مسئول: تهران، گروه پرتوپزشکی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، فرشید باباپور مفرد (**email**: Babapour@srbiau.ac.ir)
ORCID ID: 0000-0002-5892-7971
تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۷/۲۲
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۱۰/۳۰

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-01-31]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1403.34.3.4.7]
[DOI: 10.61186/iau.34.3.245]

دقیق تر بیماری‌ها از جمله سرطان‌ها و اختلالات عصبی و همچنین کمک قابل توجهی در طراحی درمان با استفاده از اطلاعاتی که در سطح سلولی و فیزیولوژیکی بافتها و درجه تومور در اختیار کاربر قرار می‌دهد (۱). مواد کنتراست‌زای مرسوم مورد استفاده برای MRI در کلینیک دارای مقیاس بزرگ‌تر بوده و تصویربرداری در سطح ملکولی با استفاده از این ترکیبات فراهم نمی‌شود. این ترکیبات در روش‌های تصویربرداری تشخیصی بطور یکنواخت در کل بدن توزیع می‌گردند و به صورت هدفمند در ناحیه مورد نظر برای تصویربرداری تجمع نمی‌کنند که باعث کاهش غلظت ترکیب در بدن شده و نیاز به تزریق با دُز بالا و حتی تزریقات بیشتر می‌باشد که نگرانی‌های مربوط به سمیت بخصوص در مورد ترکیبات کنتراست مثبت گادولینیوم‌دار در بیماران نارسایی کلیوی مطرح است (۲). بنابراین نیاز به طراحی و سنتز مواد کنتراست‌زا در مقیاس نانو است تا بتوان با تزریق دُز کمتری فرایند تصویربرداری را انجام داده و بدین ترتیب نگرانی در مورد سمیت مواد کنتراست زای تزریقی هم به کمترین مقدار خود می‌رسد. یکی از مشکلات عمده در مورد مواد کنتراست مرسوم در کلینیک، دفع سریع از طریق سیستم ادراری است که باعث می شود متوسط زمان چرخش در سیستم گردش خون در حدود ۲۰ دقیقه است که استفاده از این ماده را برای تمامی ارگان‌ها محدود می‌کند.

نانوذرات پارامغناطیسی (NPs) به طور گسترده در دهه های گذشته به عنوان عوامل کنتراست‌زای بالقوه (CAs) برای MRI مورد بررسی قرار گرفته اند تا بر محدودیت عمر کوتاه و حساسیت پایین و نگرانی های ایمنی عوامل کنتراست مبتنی بر Gd، از جمله نارساییهای کلیوی غلبه کنند (۲). اگر چه می توان با کپسوله کردن عوامل کنتراست زای فلزی، میزان آزاد شدگی یونهای فلزی را کاهش داده و سمیت را به حداقل رسانید، ولی با تخریب ترکیبات شلات کننده، ممکن است یونهای فلزی در محیط اطراف آزاد شده و منجر به عوارض و بروز سمیت شوند (۳). بنابراین لزوم توسعه عوامل کنتراست زای غیر فلزی در تصویربرداری MRI با حساسیت و ویژگیهای قابل مقایسه یا برتر نسبت به عوامل کنتراست زای فلزی مرسوم، ضروری است. همچنین سازمان دارو و غذا (FDA)، اخیرا هشدار ایمنی در مورد رسوب طولانی احتمالی عوامل کنتراست بر پایه Gd در بافت مغز و کلیه ها را صادر کرده است (۴). طی دهه گذشته کوانتوم داتها (QDs) و طی سالیان اخیرگرافن کوانتوم داتها (GQDs) از جمله نانو موادی بودند که در زمینه‌های مختلف تحقیقاتی داروسازی و پزشکی از جمله بمنظور اهداف دارورسانی، تصویربرداری و درمان انواع بدخیمی ها مورد استفاده قرار گرفتند. به دلیل تابش نور عالی، سمیت سلولی کم، نواحی سطحی بیشتر و بهره کوانتومی بالاتر، ساخت آسان، زیست سازگاری خوب، GQDs ساختارهای ارجح نسبت به QDs هستند. درواقع GQD نسل جدیدی از گرافن اکسید شده با درجه بالاتر نسبت به اکسیدهای نسل قبلی است. نقاط کوانتمی گرافنی (GQDs) که در واقع به صورت ساختارهای کربنی Zero-Dimensional با ابعاد جانبی کمتر از ۱۰۰ نانومتر و ضخامتی با کمتر از ۱۰ لایه کربنی هستند، در زمینه‌های تصویربرداری زیستی (bio imaging)، بر اساس ویژگی های فتولومینسانس، مورد توجه قرار گرفته‌اند (۹-۵). همچنین بررسی‌های سمیت سلولی برای این مواد بر روی سلول‌های خونی و برخی از رده‌های سلولی معمول، حاکی از غیر سمی بودن GQDs (در مقایسه با نانو ساختارهایی با خواص مشابه)، در راستای تصویربرداری در محیط in vivo هستند که موجب گسترش استفاده از خواص نوری این مواد در امور تصویربرداری در ۱۰ سال گذشته شده است (۱۲-۱۰). حساسیت نقاط کوانتمی مبتنی بر پایه گرافن وابسته به عملکرد کوانتمی است که مربوط به تعداد لایه‌های نقاط کوانتمی و مواد دوپانت شده به آنهاست. دوپانت نقاط کوانتمی گرافنی با هیدرواتمها مانند اتمهای B, N, P, S نه تنها می تواند نورهای تابشی را تقویت کند بلکه باعث افزایش عملکرد کوانتمی و در نتیجه باعث افزایش حساسیت آنها می‌شود (۱۵-۱۳).

هنگامی که هیترواتم‌ها به مواد کربنی رها می‌شوند باعث انتقال آنها به مواد نیمه هادی نوع n یا p به خاطر انتقال الکترون‌ها بین مواد میزبان و دوپانتها و پیوند اتمهای کربن و اتمهای مشابه است. اتمهای دوپانت روی مولکول‌های داخلی GQDها قرارگرفته و محتوای عناصر آنها، پیکربندی محلی الکترون، قطبش پذیری، محتوای نقایص و ساختار باند انرژی را تغییر می‌دهند (۱۸-۱۶). به طور کلی پیوندهای دو قطبی کربن با هیترواتم‌ها به عنوان مراکز پارامغناطیسی بوده و عامل تولید سیگنال در سیستم تصویربرداری تشدید مغناطیسی است (۲۱-۱۹).

هدف کلی از این پژوهش، تهیه ماده کنتراست بدون یون‌های فلزی در مقیاس نانو و بررسی کاربرد آن به عنوان یک ماده کنتراست ساز در سیستم تصویربرداری تشدید مغناطیسی (MRI) بود.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-01-31]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1403.34.3.4.7]
[DOI: 10.61186/iau.34.3.245]

مواد و روشها

نمونه های نقاط کوانتمی گرافنی دوپه شده با فسفر و نیتروژن(PN-GQD)، با روش سنتز هیدروترمال پایین به بالا در دستگاه سنتز میکروسنتز با استفاده از مواد اولیه تهیه شده از شرکت MERK با خلوص بالا و بدون خلوص سازی بیشتر سنتز شدند. برای سنتز نمونه‌ها ۱۵mgr اسید اسیتیک، ۳cc محلول آمونیاک ۲۵ درصد و ۱cc اسید فسفریک و ۱۰cc آب مقطر در سلول میکروویو دستگاه میکروسنتز با هم مخلوط شده و با آهنگ دمایی ۳۸ درجه سانتیگراد بر دقیقه از دمای ۱۲۰ تا ۱۵۵ درجه سانتیگراد و تحت فشار ثابت ۱۰۰۰ پاسکال به صورت گام به گام انجام شد. پس از آن محلول حاصل دوبار در اتانول حل شد و با استفاده از دستگاه سانتریفوژ خالص سازی PN-GQD سنتز شده انجام شد. سپس رسوب محصول جمع آوری شد و پس از خشک کردن نمونه های سنتز شده مشخصه یابی (TEM,XRD,FTIR,XPS,TGA) روی نمونه‌ها انجام شد.

بررسی سمیت سلولی

برای بررسی سمیت سلولی نمونه‌های سنتز شده، سلول‌های MCF-7 و MCF-10A به ترتیب به عنوان رده‌های سلولی تومورال و سالم پستان در پلیت ۹۶ خانه به مدت ۲۴ ساعت در شرایط انکوباسیون با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و ۵ ٪ دی اکسید کربن انکوبه شدند. بعد از یک شبانه روز انکوباسیون محیط کشت سلولها تخلیه و سلولها تحت محیط کشت تازه حاوی نانوذرات سنتز شده (PN-GQDs) در غلظت‌های ۰، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر قرارگرفتند. ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از انکوباسیون، محیط کشت سلول‌ها خارج گردید و سلول‌ها سه مرتبه توسط PBS شستشو داده شدند. سپس ۲۰ میکرو لیتر MTT و ۲۰۰ میکرو لیتر محیط کشت بدون FBS به هر چاهک اضافه شد. با توجه به اینکه FBS حاوی پروتئین است، برای جلوگیری از انسداد کانال‌های غشای سلول محیط کشت بدون FBS افزوده شد. در این مرحله از یک ورقه آلومینیوم به منظور جلوگیری از ورود نور به پلیت و جلوگیری از ایجاد واکنش نور با MTT استفاده شد. سپس سلول‌ها در درون انکوباتور برای مدت ۴ ساعت انکوبه شدند. پس از ۴ ساعت محیط کشت درون پلیت‌ها تخلیه شد و ۲۰۰ میکرو لیترDSMO (به منظور تخریب غشای سلول) به هر چاهک اضافه گردید. در نهایت جذب نوری محلول بدست آمده را می توان در طول موج 570nm توسط میکروپلیت ریدر قرائت کرد و با معادله زیر به سلول های کنترل تیمار نشده نرمال شد:

$$\text{Survival fraction (\%)} = ((OD_{sample} - OD_{Blank}) / (OD_{Control} - OD_{Blank})] \times 100$$

جهت بررسی های سلولی از مواد فهرست شده در جدول ۱ استفاده شد.

جدول ۱. مواد مورد استفاده برای بررسی‌های سلولی

نام ماده	شرکت
رده سلولی تومورال پستان انسانی اپیتیال (MCF-7)	انستیتو پاستور ایران
رده سلولی غیر تومورال پستان انسانی اپیتیال (MCF- 10A)	انستیتو پاستور ایران
محیط کشت سلولی RPMI	Sigma Aldrich
محیط کشت سلولی DMEM	Sigma Aldrich
سرم جنین گاوی(FBS)	Gibco
پنی سیلین/ استرپتومایسین	Biosera
فسفات سالین بافر(PBS)	Dulbecco
تریپسین	Merck Chemicals

بررسی میزان آسودگی طولی نانوذرات سنتز شده

برای تعیین کاربرد بالقوه نانوذرات (PN-GQDOTs) به عنوان ماده کنتراست زای MRI، دستگاه MRI مورد استفاده برای اندازه گیری زمان آسایش نانوذرات سنتز شده اسکنر 3T مرکز ملی تصویربرداری مغزی دانشگاه علوم پزشکی تهران (Prisma, Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) و اطلاعات توسط کویل سر برای اندازه گیری زمان آسایش فراهم شده است. با توجه به اینکه نمونه سنتز شده عامل کنتراستT_1 است. برای به دست آوردن زمان آسایش طولی T_1 و متناسب با آن توانایی آسایش طولیr_1 از پروتکل تصویربرداری اسپین- اکو بر حسب TRهای مختلف برای غلظتهای مختلف PN-GQDs و دوتارم (Dotarem) به عنوان ماده کنترل (ماده کنتراست تجاری MRI تایید شده) در مدل فانتوم انجام شد. با استفاده از روش چند نقطه‌ای و با برازش خطی منحنی نمایی بر شدت سیگنال برای چندین TR مختلف و برای غلظتهای مختلف از نمونه‌ها و به ازای TE ثابت مقادیر T_1 و r_1 برای نمونه محاسبه شد. مشخصات پروتکل مورد استفاده به صورت زیر بود:

TR=50, 200,400,600,800,1100,1300,1500,1800,2000ms, TE=11ms

Slice Thickness=5mm, FOV=250mm×250mm, Matrix Size= 256×256

نانوذره سنتز شده و دوتارم به عنوان ماده کنترل با غلظت-های۰/۰۲ ، ۰/۰۴، ۰/۰۸، ۰/۱۶، ۰/۳۲ و ۰/۶۴، میلی مولار (mM) در داخل ژل آگارز فراهم شد.

تصویربرداریMRI بصورت in vitro

برای بررسی نفوذ نانوذرات به داخل سلول‌ها و تأیید توانایی هدف‌گیری سلول‌های سرطانی نانوذرات (PN-(GQDOTs، از

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-01-31]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1403.34.3.4.7]
[DOI: 10.61186/iau.34.3.245]

تصویربرداری تشدید مغناطیسی استفاده شد. برای این منظور، با تیمار سلول‌های MCF-7 و MCF 10A (5×10^6 سلول در هر چاه) با غلظت‌های مختلف (۰، ۱۰ و ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) از نانوذرات سنتز شده(PN-(GQDOTs) به مدت ۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، انکوبه شدند. تا مشخص شود که NP ها انواع خاصی از سلول ها را هدف قرار می دهند یا خیر. قبل از تصویربرداری MR ، بعد از گذشت ۶ ساعت سلولها با استفاده از محلول بافر(PBS) سه بار شستشو داده شد و در ویالهای مخصوص با تراکم سلولی 1×10^6 سلول در میلی‌لیتر تحت تصویربرداری MRI قرار گرفتند. تصویربرداری MRI با استفاده از پروتکل تصویربرداری اسپین- اکو با پارامترهای زیر انجام گرفت:
TR/TE = 500/12 ms, 220 ×320 matrices, 82 ×120 mm field of view, 140 Hz/Px of bandwidth, and a slice thickness of 3 mm

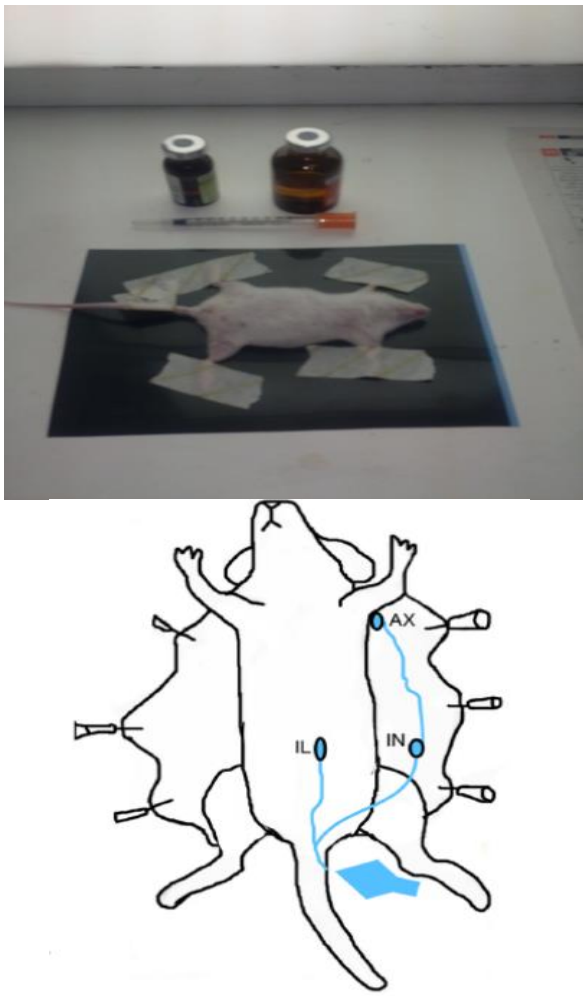
آزمایش‌های درون تنی برای آشکارسازی بافت توموری

یکی از اهداف پروژه آشکارسازی بافت توموری در موش‌های حامل تومور است. که جهت اثبات موثر بودن ترکیبات سنتز شده اقدام به تولید مدل حیوانی شد. حیوانات مورد استفاده، موش‌های سوری بزرگ نر سالم با وزن ۲۰-۳۰ گرم بودند. بدین ترتیب که سه میلیون سلول از نوع تومور پستانی موش $4T_1$ به‌صورت زیر جلدی در ناحیه فلانک پای چپ به حیوان تزریق گردید. بعد از ۲ هفته از تزریق سلول‌ها که یک توده‌ی سرطانی با حجم ۱×۱×۱ میلی‌متر مشاهده شد، ماده کنتراست با دوز ۰/۱mmol NPs/Kg وزن موش از طریق ورید دمی به حیوان تزریق شد و تصویربرداری قبل از تزریق ماده کنتراست و در زمان‌های مختلف پس از تزریق انجام گرفت. برای به دست آوردن دز مورد نظر از نانوذرات، سوسپانسیون نانوذرات با استفاده از آب رقیق شد. موش‌ها به صورت تصادفی در سه گروه که هر گروه شامل ۵ موش است تقسیم‌بندی می‌شود. گروهی که Dotarem تزریق شده به‌عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. این موش‌های آزمایشگاهی قبل از تزریق مواد کنتراست‌زا با استفاده از اتیل اتر تحت بیهوشی سطحی قرار گرفتند و قبل از تصویربرداریMRI، بیهوشی عمیق و طولانی با استفاده از مخلوط کتامین با دز 15mg/kgو زایلازین با دز 0/8mg/kg برای این موش‌ها انجام شد. سپس با پروتکل مشخص از هر سه گروه تصویربرداری به عمل آمد.

تصویربرداری با دستگاهMRI، ۳ تسلا Prisma, Siemens (Healthcare, Erlangen, Germany) در مرکز ملی نقشه‌برداری مغزی با استفاده از کویل سر ۶۴ کاناله و با پروتکل تصویربرداری زیر انجام گرفت.

Fast Spin Echo, TR= 800ms, TE= 8/6ms, NEX= 5, Flip angle= 150°, Matrix= 192×128, FOV= 10mm×11mm, Slice Thickness= 2mm, BW= 10 KHz

قسمت مورد بررسی، ناحیه تومورال ناحیه فلانک پای چپ موش بود. این حیوانات در حین تصویربرداری در وضعیت خوابیده به پشت ثابت شدند و دقت کامل برای رعایت تقارن کامل بدن حیوان انجام شد. حیوان بین دو صفحه کویل و با حداقل فاصله ممکن از کویل قرار می‌گرفت. بدین ترتیب بیشینه سیگنال قابل‌دستیابی بود. در مطالعات مختلف، تزریق نانوذرات به‌صورت داخل وریدی (IV) انجام شد. درحالی‌که در تمامی مطالعات حیوانی، قوانین اخلاقی مربوط به کار با حیوانات بر اساس پروتکل CCAC مراعات گردید. (کد اخلاقی مربوط به این کار پژوهشی: IR.TABZMED.AEC.1402.049) ، مطالعات کمی تصاویر بر اساس اندازه‌گیری پارامتر شدت Signal اندازه‌گیری شد. در شکل۱، نحوه تزریق و همچنین قرارگیری حیوان در حین تصویربرداری نشان داده شده است.

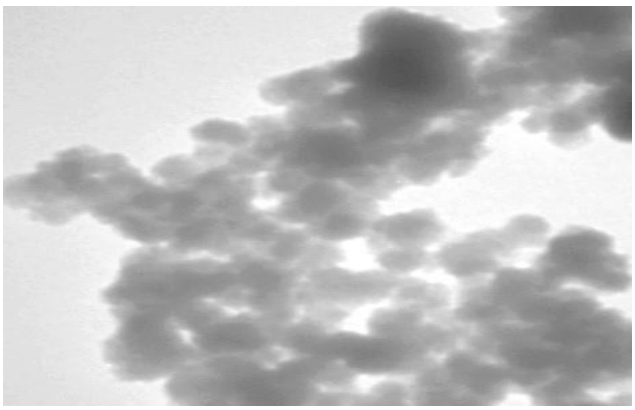


شکل۱. طرز قرار گرفتن موش و بیهوشی آن و طرح و دیاگرام تزریق نانوذرات به موش

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-01-31]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1403.34.3.4.7]
[DOI: 10.61186/iau.34.3.245]

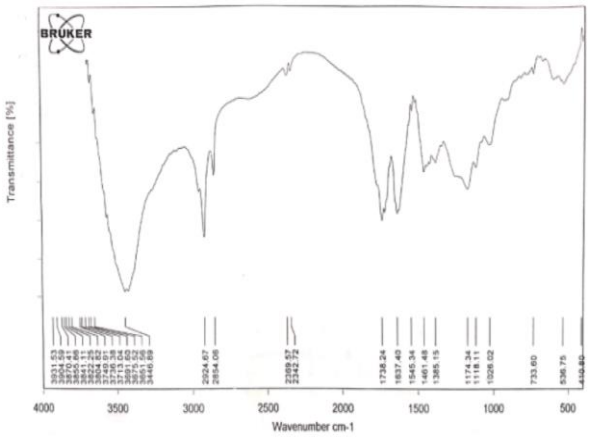
یافته‌ها

ساختار مورفولوژی نانوذرات سنتز شده به وسیله میکروسکوپ الکترونی عبوری(TEM) مورد بررسی قرار گرفت. در شکل ۲، تصویر TEM نمونه سنتز شده نشان داده شده است که نشان دهنده این است که اندازه متوسط نانوذرات سنتز شده در محدوه ۵-۱۵nm است. در این تصویر ساختار کروی ذرات و همچنین اندازه یکنواخت آنها قابل مشاهده است که با پیوندهای هیدروژنی با هم برهمکنش کرده و به حالت تجمعی در تصویر مشخص شده‌اند.



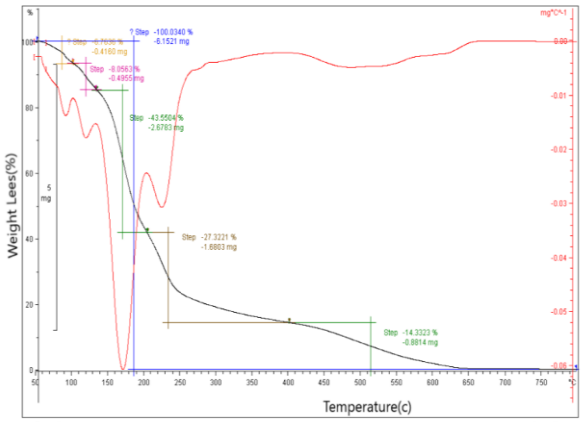
شکل ۲. تصویر TEM نمونه سنتز شده (PN-GQD)

با استفاده از آنالیز FTIR برای شناسایی نوع پیوندهای تشکیل شده یا گروه های عامل قرار گرفته بر سطح ساختار نمونه سنتز شده و تعیین ساختار مولکولها از آنالیز طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز استفاده شد. در شکل ۳، نمودار آنالیز FTIR برای نمونه سنتز شده نشان داده می شود. نتایج نشان دهنده پیوند کششی H-O در محدوده ۳۵۰۰ که مربوط یه گروههای عامل هیدروکسیل می باشد. پیک موجود در محدوده ۲۹۰۰ مربوط به پیوند کششی C-H و پیک موجود در محدوده ۱۴۰۰ مربوط به پیوند C-N می باشد. پیکهای مربوط به پیوند کششی C=O در محدوده ۱۷۰۰ مشاهده شد که مربوط به گروههای عامل کربونیل می باشند. در محدوده ۱۵۰۰، پیک مشاهده شده مربوط به پیوندکششی C=C و پیک مشاهده شده در محدوده ۹۵۰ مربوط به پیوند P-C می باشند. پیک‌های مشاهده شده در محدوده ۱۱۰۰ نیز مربوط به پیوندهای کششی C-O هستند.



شکل ۳. نمودار آنالیزFTIR نمودار مربوط به نمونه سنتز شده(PN-GQD)

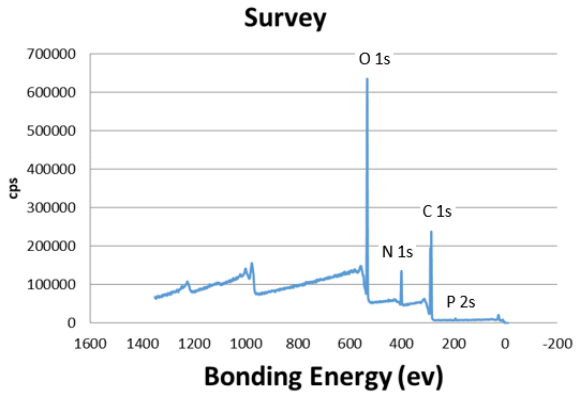
با استفاده از آزمون آنالیز حرارتی به منظور بررسی خواص فیزیکی یک ماده به عنوان تابعی از دما استفاده شد. در شکل ۴، طیف آنالیز TGA برای نمونه سنتز شده (PN-GQD) نشان داده می شود که در گستره دمایی دمای اتاق تا ۷۵۰ درجه سانتیگراد با آهنگ 10C/min انجام شد. تا دمای ۱۰۰ درجه کاهش حدود۶/۷ درصد مربوط به رطوبت و آب سطحی می باشد. طیف آنالیز TGA که بر اساس افزایش دما بر حسب زمان می باشد دو پلکان شاخص که نشان دهنده جرم در نقاط ۱۵۰ (ترکیب آلی فسفر که به گرافن کوانتوم دات دوپه گردیده) و ۲۰۰ (از دست دادن جرم گرافن کوانتوم دات) می باشد نشان دهنده دوپه شدن فسفر به گرافن است.



شکل۴. طیف آنالیز TGA برای نمونه سنتز شده(PN-GQD)

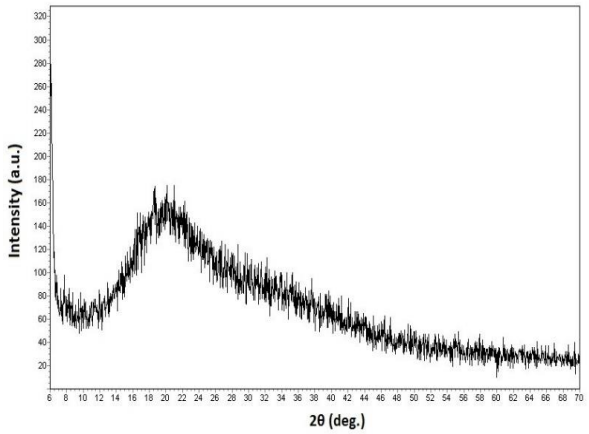
با استفاده از آنالیز XPS که در شکل ۵ نشان داده شده، درصد عناصر موجود در نمونه عبارت بودند از: ۵۸/۱۹ درصد کربن، ۱۲/۳۵ درصد نیتروژن، ۲۶/۳۲ درصد اکسیژن و ۳/۱۴ درصد فسفر. همچنین عدم حضور عناصر فلزی در نمونه سنتز شده مشاهده می‌شود.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-01-31]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1403.34.3.4.7]
[DOI: 10.61186/iau.34.3.245]



شکل ۵. طیف آنالیز XPS برای نمونه سنتز شده(PN-GQD)

طیف XRD برای نمونه سنتز شده (PN-GQD)، در شکل ۶، نشان دهنده یک پیک پراش گسترده به خاطر کریستالیتیه خیلی کم یا آمورف بودن نمونه بوه که مرکز پیک در حدود $\theta 2=22^{o}$ است و هیچ پیک دیگری مشاهده نمی‌شود. بنابراین از طیف XRD نمونه می‌توان خلوص بالای نمونه سنتز شده را نتیجه گرفت. با دوپه شدن گروه فسفات این مقدار هیچ گونه تغییری را نشان نمی دهد که بر حسب انتظار حاکی از یک ترکیب آمورف بوده و با اضافه شدن گروه آلی فاصله بین صفحات تغییری نکرده است.

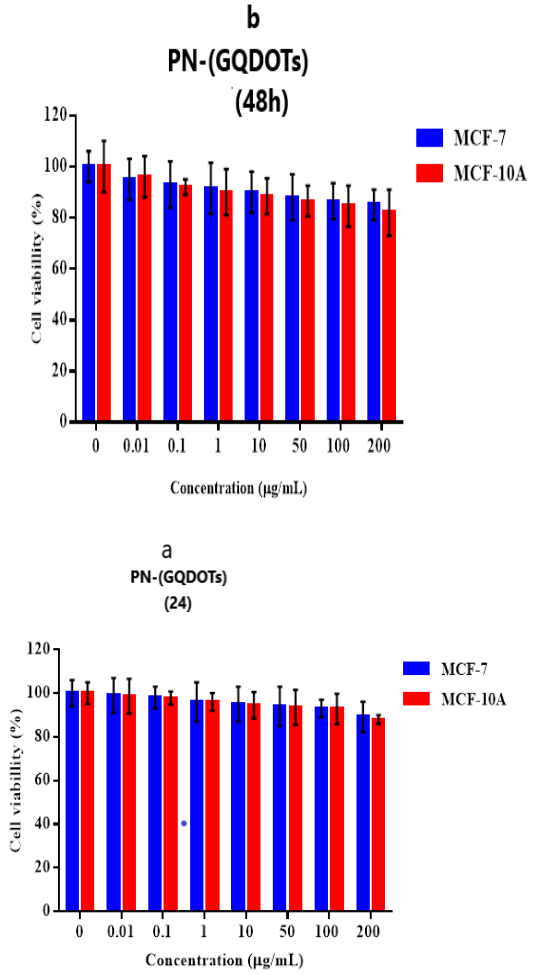


شکل ۶. آنالیز XRD مربوط به نمونه سنتز شده(PN-GQD)

نتایج سنجش سمیت سلولی، همانطور که در شکل ۷ نشان داده شده است، هیچ کاهش واضحی در زنده ماندن سلول با غلظتهای مختلف PN-(GQDOTs) NPs (تا ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) برای مدت زمان انکوباسیون ۲۴ ساعت وجود نداشت. حتی در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، زنده ماندن سلول همچنان بالای ۹۰ درصد باقی ماند. با افزایش زمان انکوباسیون NPs به ۴۸ ساعت، میزان بقای سلولی با روند وابسته به غلظت کاهش یافت و کاهش غیر قابل توجهی در زنده ماندن سلول در مقایسه با گروه کنترل وجود داشت. این نتایج نشان داد که نانوذرات (PN-GQDOTs) می‌توانند سمیت سلولی کمی در محدوده غلظت داده شده داشته باشند، که برای تصویربرداری MR و کاربردهای بیولوژیکی بیشتر در شرایط آزمایشگاهی و درون تنی ضروری است.

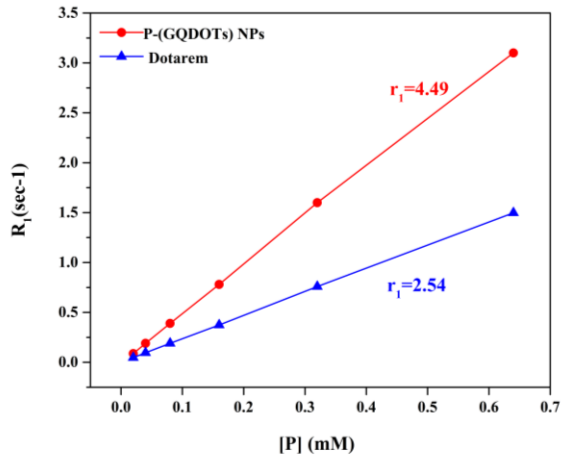
نتایج اندازه گیرهای In vitro

نتایج حاصل از بررسی قابلیت استفاده از نانوذرات سنتز شده به عنوان ماده کنتراست زا در تصویربرداری MRI با اندازه گیری میزان آسودگی طولی آنها در شکل ۸ نشان داده شده است که بیانگر این است که نانوذرات سنتز شده(PN-GQDs) به طور موثری زمان آسایش طولی T_1 را کوتاه‌تر می‌کند و شدت سیگنال را در تصاویر وزنی T_1 در مقایسه با دوتارم به طور قابل توجهی افزایش می دهد و همین‌طور میزان افزایش کنتراست روشن در تصاویر وزنی T_1 با افزایش غلظت نمونه ارتباط مستقیم دارد. مقادیر توانایی آسایش r_1 برای P-(GQDOTs) NPs و Dotarem به ترتیب ۴/۴۹ و ۲/۵۴ به دست آمد.

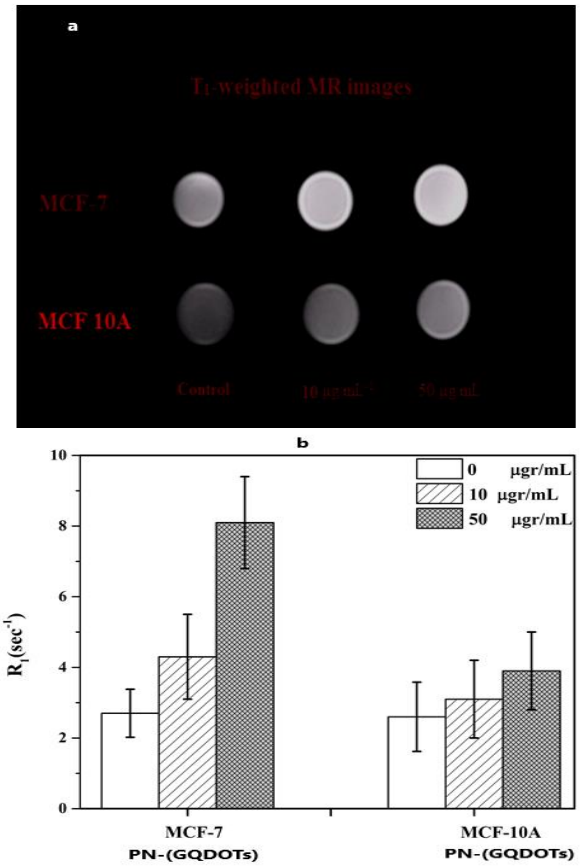


شکل ۷. زنده ماندن سلول‌های MCF-7 و MCF-10A پس از تیمار با PN-(GQDOTs) NPs درغلظت‌های مختلف پس از زمان انکوباسیون ۲۴ (شکل 7-a) و ۴۸ ساعت (شکل 7-b).

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-01-31]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1403.34.3.4.7]
[DOI: 10.61186/iau.34.3.245]



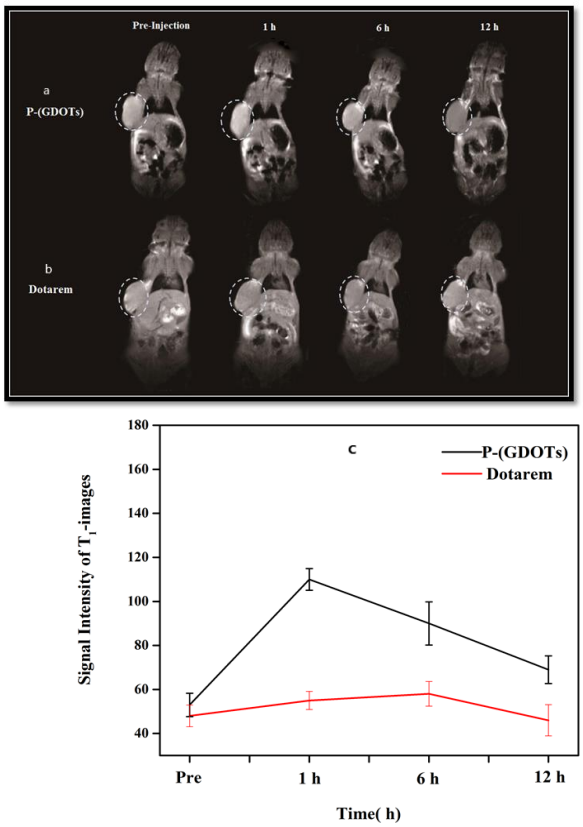
شکل ۸. تصاویر وزنی T1، آسایش طولی نانوذرات Dotarem و PN-(GQDOTs)



شکل ۹. a. تصاویر T1-Weighted از نانوکمپلکس PN-(GQDOTs) در مجاورت سلول‌های سرطانی MCF-7 و MCF 10A. ،b: نمودار شدت سیگنال برای تصاویر T1-Weighted

تصویربرداری MRI به صورت in vitro

همان طور که در شکل ۹ نشان داده شده است، تصاویر MRI با وزن T_1 به دست آمده از فانتومهای حاوی سلول های MCF-7، افزایش قابل توجهی در شدت سیگنال T_1 را نشان می‌دهد. با توجه به تجزیه و تحلیل کمی تغییر سیگنال MR، مقدار R_1 سلول‌های MCF-7 در زمانی که با PN-(GQDOTs) NPs (۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به مدت ۶ ساعت تیمار شدند، تقریباً سه برابر بیشتر از سلول‌های کنترل تیمار نشده بود. با این حال، تحت شرایط مشابه، مقدار R_1 برای سلول های MCF-10A تنها ۱/۴ برابر بیشتر از سلول‌های کنترل تیمار نشده بود. جذب سلولی خاص نانوذرات PN-(GQDOT) به سلول‌های MCF-7 در نتیجه تقسیم سلولی و فعالیت بیشتر در مقایسه با سلولهای نرمال MCF 10A ممکن است به تفاوت قابل توجه بین سلول‌های MCF-7 و سلول‌های MCF 10A، در تصاویر MRI نسبت داده شود.



شکل۱۰. تصاویر موش‌های توموری بعد از تزریق به ترتیب a: تزریق PN-(GDOTs)، (b) تزریق دوتارم، (c) نمودار سیگنال به نویز در زمانهای مختلف بعد از تزریق.

نتایج آزمایش‌های درون تنی

همان‌طور که در شکل ۱۰ دیده می‌شود کنتراست و تفاوتی در تصاویر قبل و بعد از تزریق ماده کنتراست برای زمان‌های مختلف بعد از تزریق دیده می‌شود. تفاوت معنی‌داری بین مقادیر شدت سیگنال در زمان‌های مختلف بعد از تزریق نانوذرات PN-(GDOTs) و دوتارم دیده

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-01-31]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1403.34.3.4.7]
[DOI: 10.61186/iau.34.3.245]

می‌شود. بیشترین میزان شدت سیگنال در ناحیه تومورال در یک ساعت بعد از تزریق مشاهده می‌شود. این نتایج میزان ماندگاری بالای نانوکمپلکس سنتز شده در ناحیه تومورال و بدن حیوان تا ۱۲ ساعت بعد از تزریق را نشان می‌دهد که نسبت به ماده کنتراست زای تجاری دوتارم، تفاوت معنی‌دار است. با توجه به نتایج مطالعه حیوانی می‌توان نتیجه گرفت که نانوکمپلکس PN-(GDOTs) می‌تواند به عنوان یک ماده کنتراست زای مثبت مورد توجه قرار گیرد که با توجه به عدم وجود ترکیبات فلزی مانند گادلنیوم در ساختار این ترکیب، نگرانی در مورد سمیت این سامانه دارویی نیز به حداقل می رسد که نتایج مطالعات سمیت سلولی نیز این موضوع را ثابت می کند.

بحث

GQDها به دلیل دفع سریع از کلیه‌ها و عدم تجمع قابل توجه در اندام‌های اصلی بدن، هیچ آسیب قابل توجهی در موش-هایی که توسط GQDها تحت درمان قرار گرفته‌اند، نداشته‌اند. بنابراین زیست سازگاری این ترکیبات در کاربردهای بالینی مورد توجه قرار گرفته است. هدف کلی از این پژوهش، تهیه ماده کنتراست بدون یون‌های فلزی و غیرسمی در مقیاس نانو و بررسی کاربرد آن در تصویربرداری MRI به عنوان یک عامل کنتراست زای مثبت بود. نتایج نشان داد که نانوذرات-PN (GQDOTs) می‌توانند سمیت سلولی کمی در محدوده غلظت داده شده داشته باشند، که برای تصویربرداری MRI و کاربردهای بیولوژیکی بیشتر در شرایط آزمایشگاهی و درون تنی ضروری است و توانایی کاهش زمان آسایش طولی(T_1) آن نسبت به دوتارم تایید شد. همچنین نتایج آزمایشات به صورت برون تنی و درون تنی نشان دهنده این است که این نانوذره سنتز شده (PN-GQDOT) می‌تواند به عنوان یک عامل کنتراست‌زای مثبت غیرفلزی و غیر سمی در سیستم تصویربرداری تشدید مغناطیسی استفاده شود.

تشکر و قدردانی

این پژوهش نتایج بخشی از رساله دکتری در رشته مهندسی پرتوپزشکی است که در گروه مهندسی پرتوپزشکی دانشگاه آزاد واحد علوم تحقیقات به تصویب رسیده است. نویسندگان از تمام افرادی که در این مطالعه مشارکت کردند کمال تشکر و قدردانی را دارند.

REFERENCES

1. Baumann T, Rottenburger C, Nicolas G, Wild D. Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours (GEP-NET) - Imaging and staging. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2016;30:45-57.

2. Shin TH, Choi Y, Kim S, Cheon J. Recent advances in magnetic nanoparticle-based multi-modal imaging. Chem Soc Rev 2015;44:4501-16.

3. Chen H, Wang GD, Tang W, Todd T, Zhen Z, Tsang C, et al. Gd-encapsulated carbonaceous dots with efficient renal clearance for magnetic resonance imaging. Adv Mater 2014;26:6761-6766.

4. Rogosnitzky M, Branch S. Gadolinium-based contrast agent toxicity: a review of known and proposed mechanisms. Biometals 2016;29:365-76.

5. Younis MR, He G, Lin J, Huang P. Recent Advances on Graphene Quantum Dots for Bioimaging Applications. Front Chem 2020;8:424.

6. Chowdhury Sh, Jiang Y, Muthukaruppan S, Balasubramanian R. Effect of boron doping level on the photocatalytic activity of graphene aerogels. Carbon 2018;128:237-248.

7. Huang Ch, Huang Ch Ch, Mai F, Yen Ch, Tzing Sh, Hsieh H. Application of graphene quantum dots for simultaneous fluorescence imaging and tumor-targeted drug delivery J Mater Chem B 2015;3: 651-664

8. PG Balkanloo. Sharifi K, Marjani A. Graphene quantum dots: synthesis,characterization, and application inwastewater treatment: a review Mat Adv 2023;4:4272-4293.

9. Hadish F, Chiang M, Hsieh Y, Wu Sh, Jou Sh. Boron- Doped Graphene quantum dots (BGQDs) from Spent Coffee Ground for Glucose Sensor. Adv Mater Sci Eng 2022;2022.

10. Biswas M, Islam Md, Nandy P, Hossein Md. Graphene quantum dots (GQDs) for bioimaging and drug delivery applications: a review. ACS Materials Letters 2021;3:889-911.

11. Chung S., Revia R.A, Zhang M. Graphene quantum dots and their applications in bioimaging, biosensing, and therapy. Adv Mat 2021;33:1904362.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-01-31]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1403.34.3.4.7]
[DOI: 10.61186/iau.34.3.245]

12. Shang Li, Li Y, Xiao Yi. Synergistic effect of oxygen-and nitrogen-containing groups in graphene quantum dots: Red emitted dual-mode magnetic resonance imaging contrast agents with high relaxivity. ACS Appl Mater Interfaces 2022;14: 39885–39895.

13. Arvand M, Hemmati S. Analytical methodology for the electro-catalytic determination of estradiol and progesterone based on graphene quantum dots and poly (sulfosalicylic acid) co-modified electrode. Talanta 2017;174:243-255.

14. Zhao H, Ding R, Zhao X, Li Y, Qu L, Pei H, et al. Graphene-based nanomaterials for drug and/or gene delivery, bioimaging, and tissue engineering. Drug Discov Today 2017;22:1302-1317.

15. Chowdhury S. Effect of boron doping level on the photocatalytic activity of graphene aerogels. Carbon 2018;128:237-248.

16. Pan D, Guo L, Zhang J, Xi Ch, Xue Q, Huang H. Cutting sp2 clusters in graphene sheets into colloidal graphene quantum dots with strong green fluorescence. J Mat Chem 2012;2: 3314-3318

17. Zhang J, Zhao Z, Xia Z, Dai L. A metal-free bifunctional electrocatalyst for oxygen reduction and oxygen evolution reactions. Nat Nanotechnol 2015;10:444-52.

18. Yu D, Xue Y, Dai L. Vertically Aligned Carbon Nanotube Arrays Co-doped with Phosphorus and Nitrogen as Efficient Metal-Free Electrocatalysts for Oxygen Reduction. J Phys Chem Lett 2012;3:2863-70.

19. Hu YH. The first magnetic-nanoparticle-free carbon-based contrast agent of magnetic-resonance imaging-fluorinated graphene oxide. Small 2014;10:1451-2.

20. Wang H, Revia R, Mu Q, Lin G, Yen C, Zhang M. Single-layer boron-doped graphene quantum dots for contrast-enhanced in vivo T_1-weighted MRI. Nanoscale Horiz 2020;5:573-579.

21. Wang H, Revia R, Wang K, Kant RJ, Mu Q, Gai Z, et al. Paramagnetic Properties of Metal-Free Boron-Doped Graphene Quantum Dots and Their Application for Safe Magnetic Resonance Imaging. Adv Mater 2017;29:10.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-01-31]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1403.34.3.4.7]

[DOI: 10.61186/iau.34.3.245]