



معرفی یک نانو ترکیب نشاندار جدید برای تصویر برداری PET: نقاط کوانتومی کادمیوم تلوراید تثبیت شده بر روی نانو سیلیکای MCM-41

راسخ الغول، آریام (۱ و ۲) _ فضائلی، سید یوسف* (۱) - مرادی دهقی، شهرام (۲) - اشتیری، پرویز (۱)

۱ پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده کاربرد پرتوها، تهران، ایران

۲ دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، دانشکده علوم پایه، تهران، ایران

چکیده:

در این پژوهش نانو ماده نشاندار فلورسنت، $^{68}\text{Ga}@CdTeQDs@SHPropyl@MCM-41$ ، تهیه شد. ساختار مولکولی مواد تهیه شده با استفاده از روش های پراش پرتو ایکس (XRD)، آنالیز حرارتی (TGA / DSC)، کروماتوگرافی لایه نازک رادیویی (RTLC)، میکروسکوپ الکترونی روبشی میدان انتشار (FE-SEM)، میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و (HRTEM)، آنالیز جذب و دفع نیتروژن مورد تشخیص و تایید قرار گرفت. همینطور توزیع بیولوژیکی نانو ترکیب $Ga @ CdTeQDs @ SH-Propyl @ MCM-41$ در داخل اعضای بدن و میزان جذب آن توسط تومور در بین موش های دارای تومور فیبروسارکوما مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تومور نانو ماده $^{68}\text{Ga}@CdTeQDs@SHPropyl@MCM-41$ را به مقدار زیاد و سریع جذب نموده است، بطوریکه نشان دهنده وجود رابطه مستقیم بین جذب تومور با اندازه و ماهیت محمل نانو ترکیب است.

کلمات کلیدی: MCM-41، نقاط کوانتومی کادمیوم تلوراید، نانو ترکیب فلورسنت، رادیو ایزوتوپ گالیوم- ^{68}Ga .

مقدمه:

پیشرفت در تولید نانو ذرات چند منظوره، باعث توسعه چشم انداز تصویربرداری داخل بدن از طریق توسعه و تولید انواع نانو فرمول های فلورسنت نشاندار شده، که شامل نقاط کوانتومی و نانو سلیس نشاندار شده با رادیو ایزوتوپ ها، می شوند. سیلیکای مزوپور را می توان بعنوان یک محمل و میزبان برای ذرات فلورسانت و ماده نشان دار شده، معرفی نمود که یک محمل بی اثر و خنثی، غیرسمی و غیرآنتی ژن با اندازه منافذ یکنواخت و دارای یک سطح تماس وسیع خاص فراهم می نماید [۱-۶]. این گروه تحقیقاتی و سایر دانشمندان با استفاده از نانو سیلیس عاملدار شده و نشان دار شده توسط اتصال مناسب رادیو ایزوتوپ به آنها، عکسبرداری هسته ای کارآمدی را از سلولهای تومور در داخل بدن و در شرایط آزمایشگاهی را نشان داده اند. با این وجود، بخاطر عدم وجود روشهای نشاندارسازی سریع برای رادیو ایزوتوپ هایی که نیمه عمر کوتاه دارند و عدم وجود، یک روش تشخیص سریع در ارزیابی توزیع بیولوژیکی و الگوهای دفع این نانو ذرات همیشه استفاده از این روش یک چالش بزرگ بوده است. برای داشتن یک نشاندارسازی سریع و کامل در pH پایین برای رادیو ایزوتوپ گالیوم (^{68}Ga)، به یک لیگاند ارتباطی که دارای گروه



عاملی اسیدی مانند گروه های تیول (-SH) باشد، احتیاج است. در اینجا، ما یک استراتژی ساده و کارآمد را برای سنتز و نشاندار کردن (با ^{68}Ga) محمل سیلیسی (MCM-41) عامل دار شده با کادمیوم تلوراید (CdTe)، را برای داشتن یک نانو ترکیب فلورسانس نشاندار جدید، گزارش کردیم که به همراه آن، خاصیت های بیولوژیکی آن نیز گزارش شده است.

روش کار :

به یک محلول آبی (۱۹۲ میلی لیتر آب، ۱۰/۶۶ مول) از محلول ستیل تری متیل آمونیوم برمید (CTAB) (۰/۴ گرم، ۱/۰۹ میلی مول) و سود دو مولار (۰/۹۳ میلی لیتر، ۱/۴ میلی مول)، تترا اتیل ارتوسیلیکات (TEOS) (۱/۹۸ میلی لیتر، ۸/۹۶ میلی مول) اضافه شد. محلول حاصل به مدت ۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد همزده شد. نسبت های مولی مواد شیمیایی موجود در ژل برابر ۱۱۸۹/۶ : ۰/۲ : ۰/۱۲۶۴ : ۱ که به ترتیب متناظر با $\text{TEOS} / \text{CTAB} / \text{NaOH} / \text{H}_2\text{O}$ است، می باشند سپس، پودر سنتز شده جمع آوری و با آب در سانتریفیوژ کاملاً شسته شد. برای خارج نمودن قالب های مولکولی (سورفکتانت ها) از بین حفرات، پودر سنتز شده در ۱۰۰ میلی لیتر محلول اتانول که حاوی ۲ میلی لیتر اسید هیدروکلریک (با غلظت ۳۷٪)، تحت شرایط رفلکس به مدت ۶ ساعت به حالت تعلیق درآمد. سپس، پودر MCM-41 سنتز شده جمع آوری و بصورت کامل در آب به کمک سانتریفیوژ شسته شد. برای از بین بردن باقی مانده حلال ها از مزوپورها، نانوسیلیس به مدت ۲۴ ساعت تحت فشار کاهش یافته در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد خشک شد. به یک سوسپانسیون تولوئنی (۱۵ میلی لیتر) حاوی MCM-41 (۰/۵ گرم) تحت گاز نیتروژن، ۰/۵ گرم از ۳-مرکاپتوپروپیل تری متیوکسی سیلان (MPTMS) اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت هم زده شد. سپس، MCM-41 عامل دار شده، جمع آوری شده و با تولوئن بصورت کامل در دستگاه سانتریفیوژ شسته شد. نقاط کوانتومی کادمیوم تلوراید با استفاده از CdSO_4 ، NaHTe و تیوگلیکولیک اسید (TGA) بعنوان ماده پوشش دهنده، سنتز شدند [1]. ۰/۲ گرم از نقاط کوانتومی کادمیوم تلوراید (CdTe QDs) و ۰/۵ گرم از ماده محمل MCM-41 عاملدار شده با گروه های تیول (SH-Propyl@MCM-41) را در ۲۰ میلی لیتر آب دیونیزه پخش شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد هم زده شد. نانو ترکیب CdTe QDs@SH-Propyl@MCM-41 به وسیله سانتریفیوژ جدا شد و چندین بار با آب شستشو داده شد، و در آن با دمای ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک گردید. ۵۰ میکرو لیتر از یک محلول با غلظت ۱ میلی گرم بر سانتی متر مکعب از نانو ماده CdTe QDs@SH-Propyl@MCM-41 را به ۱۰۰ MBq (معادل تقریبی $10^{-4} \times 9/48$ نانو مول) از $^{68}\text{Ga} \text{ GaCl}_3$ در ۲ میلی لیتر محلول استات سدیم (۱۱۵ میلی گرم)، اضافه شد. سوسپانسیون بدست آمده در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد و به مدت ۵ دقیقه همزده شد. سوسپانسیون نهایی از فیلتر با مش ۰,۲۲ میکرومتر عبور داده شد و pH محلول بر روی ۵/۵ تنظیم شد.

درجه خلوص رادیوشیمیایی نانو ترکیب نشاندار شده با گالیوم- ^{68}Ga توسط دستگاه کروماتوگرافی لایه نازک (RTLC) و با استفاده از محلول ۰/۱ مولار از دی اتیلن تری امین پنتا استیک اسید (DTPA) بعنوان فاز متحرک و کاغذ شماره ۲ واتمن بعنوان فاز ثابت، ارزیابی شد. تومورها در موش ها (نژاد Sprague Dawley®) با تزریق زیر جلدی ۱۰ میکرو لیتر از محلول ۳-متیل کلاترن در روغن زیتون (۴ میلی گرم در میلی لیتر) تولید شدند. بعد از چهارده تا شانزده هفته وقتی تومورها به وزن ۰/۲ تا ۰/۴ گرم رسیدند، نانو ترکیب نشاندار شده با گالیوم- ^{68}Ga (معادل ۳,۷ MBq) از طریق رگ در دم موش ها به آنها تزریق شد. تصاویر

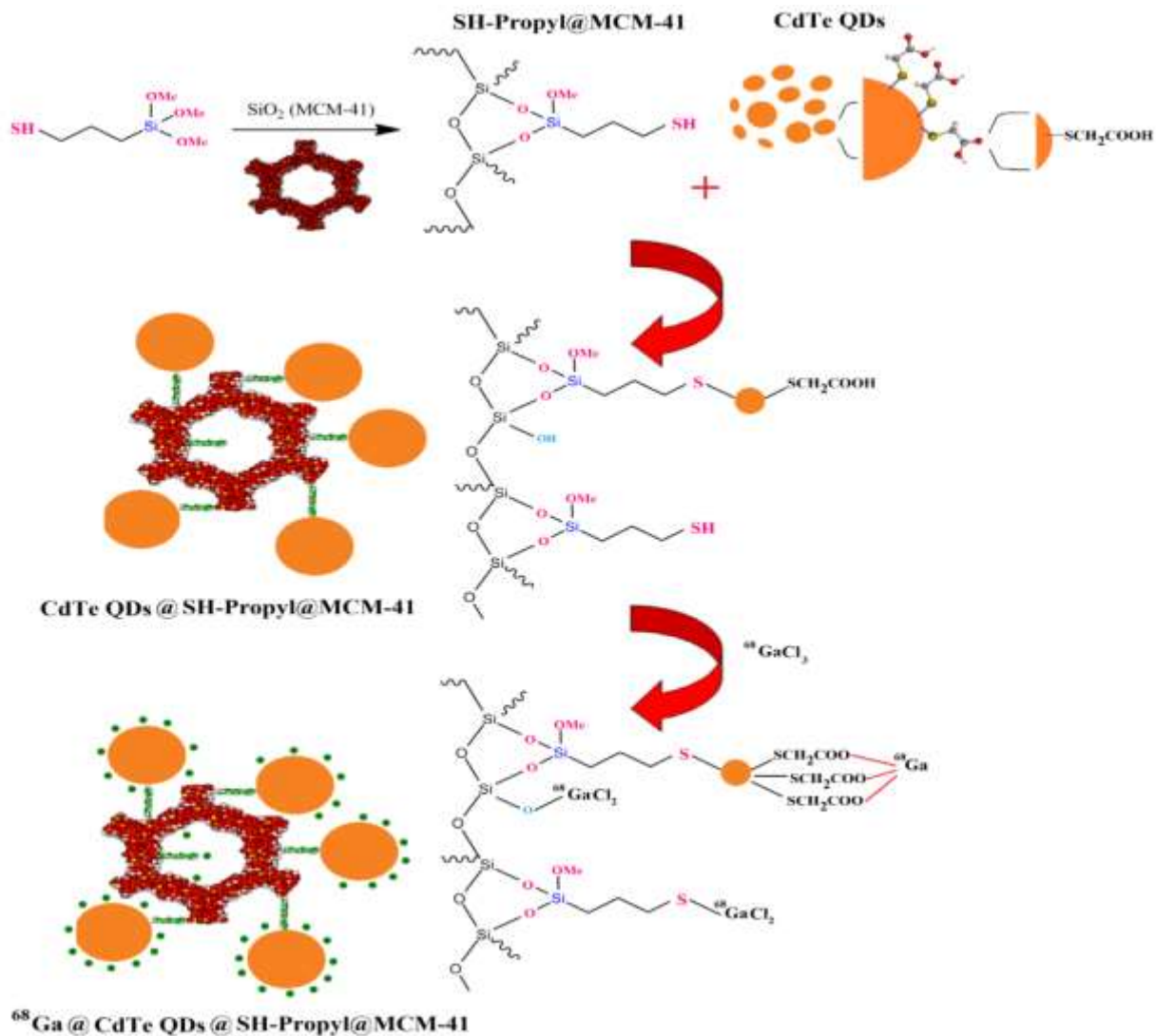


PET با یک سیستم اسپکت دو سر، SPECT در بدست آمدند. توزیع نانوترکیب نشان دار شده در بین اعضای بدن، بلافاصله پس از تصویربرداری اندازه گیری شد. میزان ماده رادیوکتیو در هر اندام با یک آشکار ساز HPGe (همراه با یک آنالایزر چند کاناله Canberra) بصورت درصد دوز تزریق اولیه در هر گرم از هر بافت ($\text{ID} / \text{g} \%$) تعیین و مشخص شد. آزمایش های تجربی در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال و پژوهشکده کاربرد پرتوها (واحد کرج) انجام شد.

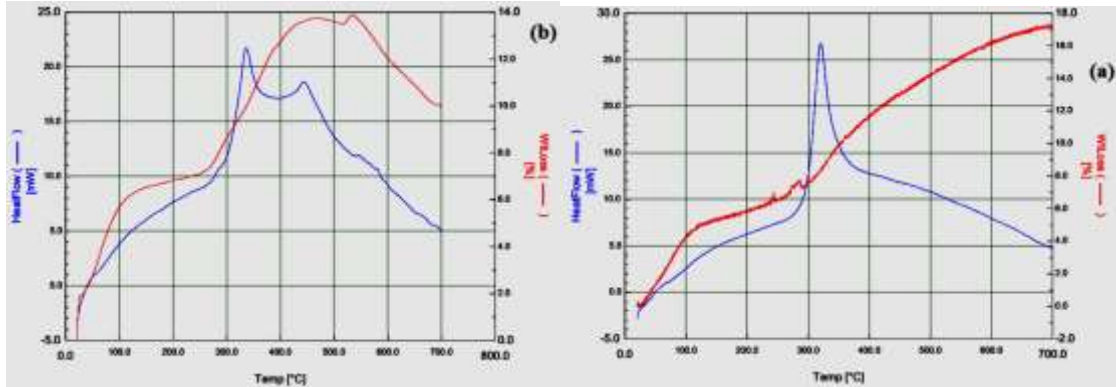
نتایج :

همانطور که در طرحواره شکل شماره ۱ نشان داده شده است، MCM-41 @ SH-Propyl با واکنش MPTMS و MCM-41 در تولون در شرایط رفلاکس تهیه شد. با توجه به فعال بودن (شیمیایی) گروه های متوکسی، واکنش آنها با گروه های هیدروکسیل موجود بر روی MCM-41 آسان و باراندامن بالا انجام شد. شکل a. ۲ نشان می دهد که تا دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد، نانو ترکیب بصورت فیزیکی مولکولهای آب را از دست می دهند (۵٪ کاهش وزن در منحنی TGA) در حالی که مولکولهای MPTMS در دمای ۲۸۰ درجه سانتیگراد (۱۵٪ کاهش وزن در منحنی TGA) (خط قرمز) همراه با یک قله اگزوترمیک (حرارت زا) در منحنی DSC در همان منطقه (خط آبی)، تجزیه می شوند. میزان جذب نانو بلورهای تهیه شده کادمیوم تلوراید (CdTe) بر روی محمل سیلیسی عامل دار شده با تیول (CdTeQDs@SH-Propyl@MCM-41) با همان روشی که در بالا توضیح داده شد، ارزیابی شد. شکل b. ۲ نشان میدهد که ۹/۵٪ کاهش وزن در منحنی TGA متعلق به جذب فیزیکی سطحی مولکولهای آب تا ۱۰۰ درجه سانتیگراد است. پس از ایجاد پیوندهای نقاط کوانتومی بر روی MCM-41 عامل دار شده، خاصیت آب دوستی بیشتر می شود که این نکته بوسیله افزایش درصد بخار آب رها شده نشان داده شده است. مولکولهای MPTMS در دمای ۲۸۰ درجه سانتیگراد (با کاهش وزن ۹/۱۳٪ در منحنی TGA، خط قرمز) به همراه اولین پیک قله گرمایی (خط آبی) در منحنی DSC در همان منطقه) تجزیه می شوند. کاهش وزن منهای ۳/۹٪ در منحنی TGA به همراه دومین قله گرمایی (در دمای ۴۴۰ درجه سانتیگراد) در منحنی DSC در همان منطقه، عمل اکسیداسیون نقاط کوانتومی کادمیوم تلوراید را نشان می دهد. شکل ۳ و ۴، الگوهای پراش اشعه X از CdTe@SH-Propyl@MCM-41، SHPropyl@MCM-41 و CdTe QDs را نشان می دهد. الگوی XRD از نقاط کوانتومی کادمیوم تلوراید (CdTe QDs)، (شکل a. ۴) سه قله را نشان می دهند که می توانند به بازتاب های صفحات (۱۱۱)، (۲۲۰) و (۳۱۱) ساختار کریستال زینک بلند (zinc blend) از کادمیوم تلوراید اختصاص داشته باشند (الگوی استاندارد: JCPDS-150770). با استفاده از فرمول Scherrer، اندازه کریستال نقاط کوانتومی در حدود ۳ نانومتر گزارش شد. پارامترهای فاصله d_{100} ۳/۷۷۸، ۳/۲۷۰۱ و ۲/۶۹ نانومتر، به ترتیب برای MCM41، SHPropyl@MCM-41 و CdTe@SH-Propyl@MCM-41 محاسبه شد. همانطوریکه توسط الگوهای XRD مشخص شده است، شدت بالا صفحه (۱۰۰) بازتاب شده در محدوده دامنه ۲ تا ۴ درجه، پیشنهاد ساختار دو بعدی شبکه شش ضلعی (P6mm) از سیلیس MCM-41 را می دهد که حتی پس از ایجاد اتصال بین MPTMS و نقاط کوانتومی کادمیوم تلوراید (CdTe QDs)، این ساختار حفظ شده است. قابل توجه است، با کاهش شدت پراش تمام مواد پیوند زده شده به همراه افزایش مقادیر فاصله d_{100} ، و تغییر مکان پیک (به

زویای بالاتر)، به وضوح نشان می‌دهد که کانالهای موجود در مزوپور، توسط مولکول های MPTMS اشغال شده اند. بازتاب های ظاهر شده مربوط به صفحات (۱۱۱)، (۲۲۰) و (۳۱۱) مربوط به نقاط کادمیوم تلوراید در الگوهای پراش اشعه ایکس از CdTe @ SH-Propyl @ MCM-41 دیده شد. این نکته شاهدهی است از ایجاد پیوند بین اتمهای گوگرد و کادمیوم (S-Cd) بین مولکول لیگاند MPTMS که روی MCM-41 قرار دارند با نقاط کوانتومی کادمیوم تلوراید (CdTe QDs) (شکل 4.b).

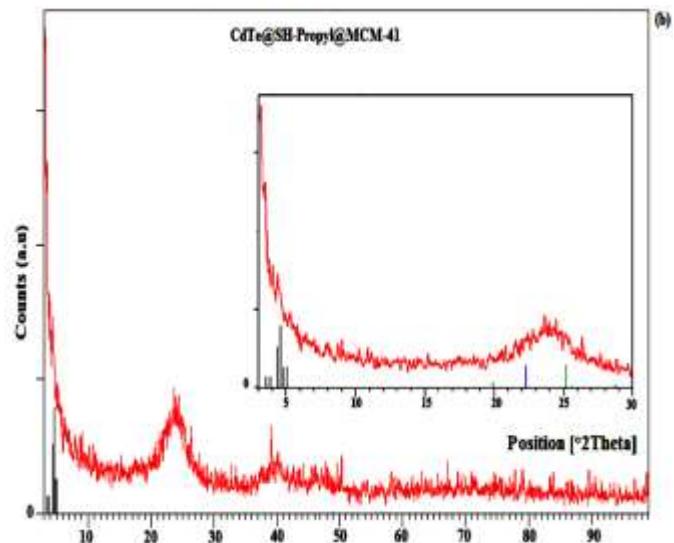
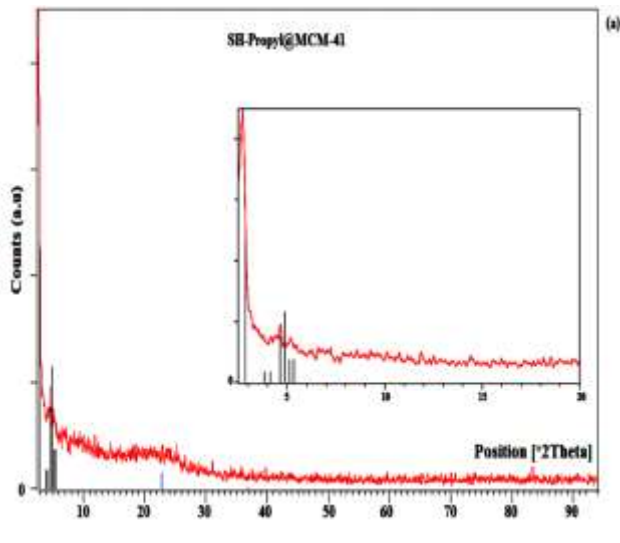
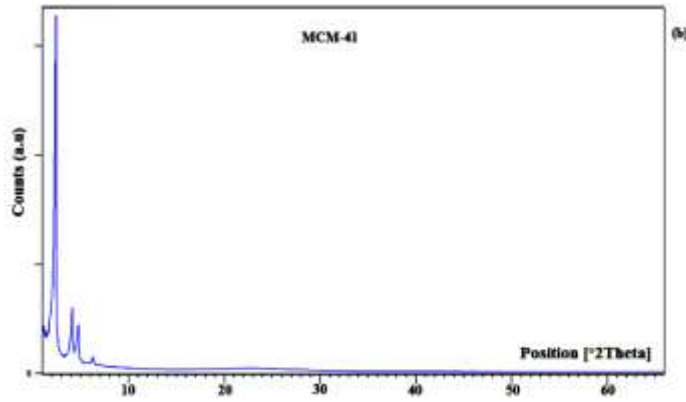


شکل ۱. پیوند نقاط کوانتومی CdTe در سیلیس مزوپور MCM-41 عامل دارشده با تیول و به دنبال آن نشاندار شدن با ^{68}Ga .



شکل ۲. منحنی های DSC و TGA مربوط به SH-Propyl@MCM-41 (a) و CdTeQDs@SH-Propyl@MCM-41 (b).

همانطور که در طرحواره شکل شماره ۱ نشان داده شده است، سطح MCM-41 با استفاده از مولکولهای MPTMS با گروه های عاملی -SH پوشش داده شده اند، که می تواند باعث پایداری سطح نقاط کوانتومی با پیوند گوگردی (-S) شده و بطور جداگانه کمپلکس های به فرم تیول- گالیوم (III) تشکیل دهند. تیوگلیکولیک اسید، بعنوان یک لیگاند دو دندانه ((-SCH₂(COO-))، بر روی سطح نقاط کوانتومی کادمیوم تلوراید، همچنین می تواند باعث تولید سایت های کمپلکسی کربوکسیلاتو گالیوم (III) شوند. گالیوم- ۶۸ (⁶⁸G) بعنوان یک فلز متمایل به اکسیداسیون (Oxophilic)، مستعد تشکیل کمپلکس با گروه های عاملی هیدروکسید (-OH) بر روی MCM-41، می باشد، بنابراین یک ساختار کمپلکس پایدار برای گالیوم-۶۸ بر روی ساختار CdTeQDs@SH-Propyl@MCM-41 متصور است.



شکل ۳. الگوهای XRD از CdTe QDs و MCM-41

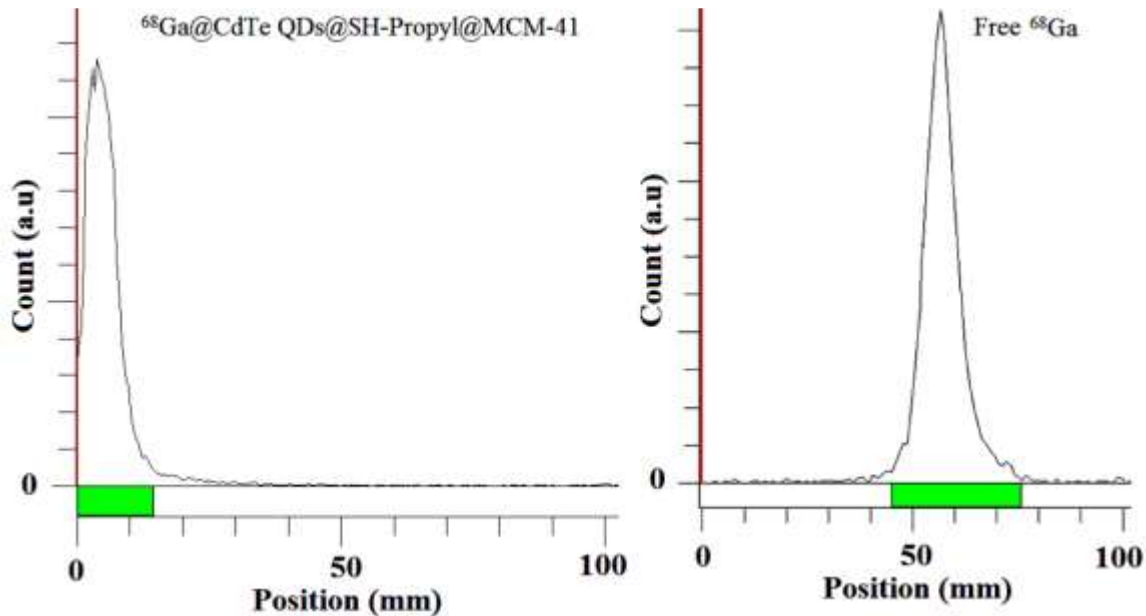
41

شکل ۴. الگوهای XRD از SH-Propyl@MCM-41 (a) و CdTeQDs@SH-Propyl@MCM-41 (b).

شکل الحاقی الگوهای XRD نمونه در 2° (دامنه ۲ تا ۳۰ درجه).

جدول ۱. پارامترهای ساختاری مربوط به سیلیکا های مزوپور MCM-41 تهیه شده.

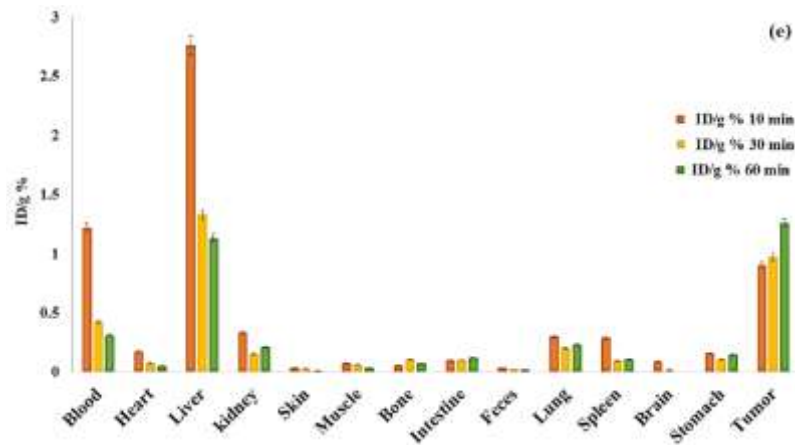
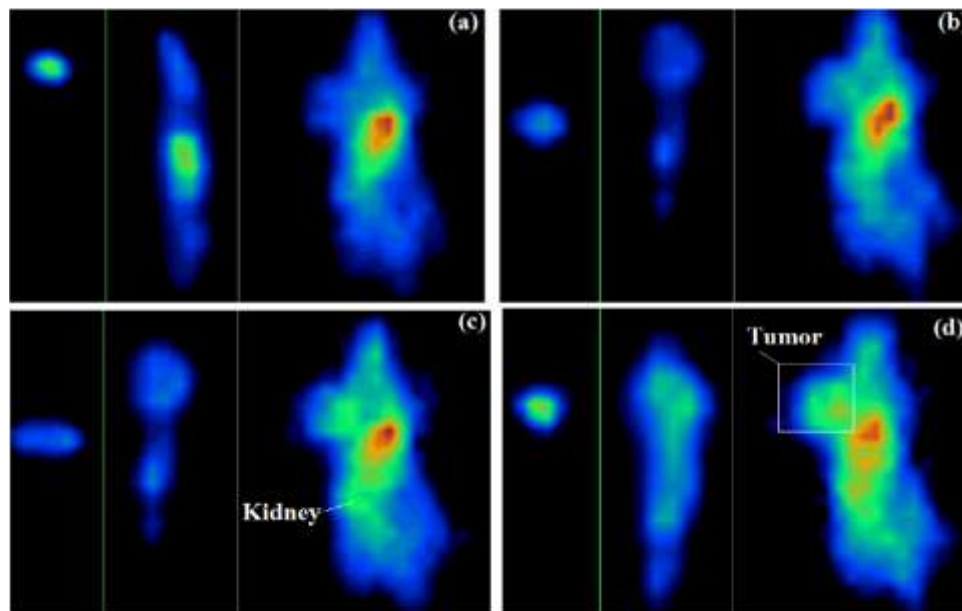
Sample	d_{100} (nm)	Pore Volume (cc/g)	S _{BET} (m ² g ⁻¹)	Pore Diameter (nm)
MCM-41	3.778	1.053	1382.723	2.711
SH-Propyl@MCM-41	3.2701	0.378	391.628	1.925
CdTeQDs@SH-Propyl@MCM-41	2.69	0.263	281.077	1.920



شکل ۵. کروماتوگرامهای (RTLC) از $[^{68}\text{Ga}] \text{GaCl}_3$ (راست) $^{68}\text{Ga@CdTe QDs@SH-Propyl@MCM-41}$ (سمت چپ).

برای تشخیص $^{68}\text{Ga@CdTe QDs@SH-Propyl@MCM-41}$ از کاتیون گالیم آزاد، از یک سیستم کروماتوگرافی RTLC استفاده شد. از محلول ۰/۱ مولار (DTPA) بعنوان فاز متحرک استفاده شد، همانطور که می دانیم $^{68}\text{Ga@CdTeQDs@SH-Propyl@MCM-41}$ نمی تواند با لیگاند DTPA اتصال ایجاد کند و در کاغذ کروماتوگرافی (در محل نقطه گذاری اولیه) بعنوان یک پیک واحد باقی می ماند، در حالی که کاتیون آزاد گالیم به $R_f (0/58)$ بالا منتقل می شود. شکل ۵ نشان می دهد که ایزوتوپ گالیم (^{68}Ga) سریع و کامل نشاندار می شود. وجود $^{68}\text{Ga@CdTe QDs@SH-Propyl@MCM-41}$ با حداقل خلوص رادیوشیمیایی ۹۹٪ در کروماتوگرافی RTLC تأیید شده است. پایداری ماده $^{68}\text{Ga@CdTe QDs@SH-Propyl@MCM-41}$ در

سرم انسانی در ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۴ ساعت، بدون جدایی ^{68}Ga از نانو ترکیب با استفاده از آنالیز RTLC به روش فوق نشان داده شد.



شکل ۶. تصویربرداری PET (حالت گذشت زمان) از $^{68}\text{Ga}@CdTe\ QDs@SH\ Propyl@MCM\ 41$ در موشهای دارای تومور فیروسارکوما در ۱۰ دقیقه (a) ۲۰ دقیقه (b) ۳۰ دقیقه (c) و ۶۰ دقیقه (d) بعد از تزریق. توزیع بیولوژیکی $^{68}\text{Ga}@CdTe\ QDs@SH\ Propyl@MCM\ 41$ و در موشهای متحمل تومور فیروسارکوما (e).



بحث و نتیجه گیری :

تصویربرداری متوالی PET، توزیع بیولوژیکی $^{68}\text{Ga}@CdTe\text{ QDs}@SH\text{-Propyl}@MCM\text{-}41$ در اندام های حیاتی موش های دارای تومورهای فیبروسارکوم در شکل ۵ ارائه شده است. همانطور که در شکل ۶. a نشان داده شده است، بعد از ده دقیقه تزریق نانو ذرات نشاندار شده به رگ دم موش ها، این ذرات در داخل کبد ظاهر شدند، درحالی که پس از ۲۰ دقیقه، درصد قابل توجهی از این ماده نشاندار شده، از طریق مجرای صفراوی شروع به انتقال و مهاجرت به دوازدهه (اثنی عشر) را آغاز کردند (شکل ۶. b). یک ساعت پس از تزریق، تصویربرداری از داخل بدن آشکار نمود که اکثر قریب به اتفاق نانوسیلیس ها درون تومور و کبد متمرکز شده بودند و تنها سیگنال متوسطی از کبد منتشر شده است (شکل ۶. c). کسر خیلی کوچکی از نانو ترکیب نشاندار شده در کلیه متمرکز شده بود. این یافته ها با تصویربرداری فلورسانس در مورد دفع ماده نانو ذرات سیلیکا در اندازه های کوچک از کبد و کلیه ها که قبلا گزارش شده سازگاری داشت. این نتایج بوسیله درصد دوز اولیه در هر گرم بافت ($\%ID / \text{g}$) از نانو ترکیب نشاندار شده گالیوم- ^{68}Ga در اندامهای حیاتی موش های دارای تومورهای فیبروسارکوما که در تصویر ۶. e نشان داده شده است، تایید می شوند. تجمع عمده این نانو ترکیب در ۶۰ دقیقه بعد از تزریق در تومور، کبد، خون، ریه و کلیه مشاهده شد. این نتایج، حداقل احتباس ذرات (دفع سریع) در داخل اندام ها را نشان می دهد و بر این واقعیت تاکید می کند که یک پوشش خنثی به اندازه کوچک روی سطح سیلیس، باعث تسهیل دفع بیشتر از ادرار و جلوگیری کردن از جذب سطحی آنها در سرم پروتئینی می شود. این نتایج نشان داد که نانوسیلیس پوشش داده شده با کادمیوم تلوراید، زیست سازگار است، و بطور انتخابی و موثری در تومورها به مانند یک خانواده از مزبورهای میزبان، تجمع می کنند،

مراجع :

- [1] Y. Fazaeli, H. Zare, S. Karimi, R. Rahighi, S. Feizi, Novel aspects of application of cadmium telluride quantum dots nanostructures in radiation oncology, Applied Physics A, 123 (2017) 507.
- [2] A.A. Burns, J. Vider, H. Ow, E. Herz, O. Penate-Medina, M. Baumgart, S.M. Larson, U. Wiesner, M. Bradbury, Fluorescent silica nanoparticles with efficient urinary excretion for nanomedicine, Nano Lett, 9 (2009) 442-448.
- [3] Y. Fazaeli, Z. Asgari, DTPA-Functionalized Nano-Porous MCM-41 Silica: A New Potential Nanoengineered Labeled Composite for Diagnostic Applications, Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science, 42 (2018) 497-504.
- [4] Y. Fazaeli, A. Hosseini Mohammad, M. Afrasyabi, P. Ashtari, $^{68}\text{Ga}@pyridinefunctionalized\ MCM\text{-}41$ mesoporous silica: a novel radio labeled composite for diagnostic applications, in: Radiochimica Acta, 2019, pp. 157.
- [5] J.S. Souris, C.H. Lee, S.H. Cheng, C.T. Chen, C.S. Yang, J.A. Ho, C.Y. Mou, L.W. Lo, Surface charge-mediated rapid hepatobiliary excretion of mesoporous silica nanoparticles, Biomaterials, 31 (2010) 5564-5574.
- [6] J. Lu, M. Liong, Z. Li, J.I. Zink, F. Tamanoi, Biocompatibility, biodistribution, and drug-delivery efficiency of mesoporous silica nanoparticles for cancer therapy in animals, Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany), 6 (2010) 1794-1805.