

## نانو صفحات مغناطیسی اکسید گرافن نشاندار با گالیوم-۶۸: یک عامل جدید تصویربرداری PET

فضائل حسینی نژاد، سید یوسف\*<sup>(۱)</sup> - فیضی، شهزاد<sup>(۱)</sup> - رحیقی، رضا<sup>(۲)</sup> - فائزه آبادی نیا<sup>(۱)</sup>

۱. سازمان انرژی اتمی ایران، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، پژوهشگاه کاربردی پرتوها

۲. دانشگاه صنعتی شریف، دانشکده فیزیک

### چکیده:

نانو صفحات اکسید گرافن با نانوذرات  $Fe_3O_4$  برای تشکیل اکسید گرافن مگنتیت (MGO) هیبرید شدند و همچنین با نشاندارسازی آن با  $[^{68}Ga]GaCl_3$  پتانسیل استفاده در سیستم های دارورسانی مورد بررسی قرار گرفت. از تکنیک های کروماتوگرافی کاغذی، طیف سنجی FTIR، پراش اشعه X با زاویه کوچک (XRD)، آنالیز CHN، میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) و ارزیابی زیستی برای مشخصه یابی کامپوزیت نهایی ( $[^{68}Ga]@MGO$ ) استفاده گردیدند. پیوند نانوذرات  $Fe_3O_4$  با نانوکامپوزیت، جذب ناخواسته اکسید آهن را در کبد و طحال کاهش و نسبت جذب کلیه به کبد را از مقدار  $0/037$  به  $1/07$  افزایش می دهد و این نانوکامپوزیت را به عنوان عاملی مناسب برای مطالعات PET و کاربردهای تصویربرداری معرفی مینماید.

کلمات کلیدی: گرافن،  $^{68}Ga$ ، اکسید آهن، تصویربرداری، تحویل دارو

### ۱. مقدمه:

ترکیبی از خواص قابل توجه اکسید گرافن نظیر مساحت سطح موثر بالا  $2/63m^2/mg$ ، قدرت استثنایی مکانیکی (مدول یانگ  $1/1$  TPa)، رسانندگی گرمایی بالا  $5000 Wm/k$ ، جذب فوق العاده بالا مادون قرمز نزدیک و تجمع بالا در تومور با حداقل عوارض جانبی سبب شده این نانومواد در زمینه های بسیاری کاربرد داشته باشد. در قلمرو تحقیقات پزشکی، نیاز به ردیابی سیستم های تحویل دارو، زمینه های بسیاری را برای بارگزاری این نانومواد با ترکیبی از رادیونوکلیدها و داروها فراهم کرده است [۱-۳]. در این تحقیق به منظور ردیابی رفتار بیولوژیکی هیبرید مغناطیسی اکسید گرافن و جلوگیری از تجمع نانوذرات اکسید آهن، نانو

کامپوزیت سنتز و با رادیونوکلئید نشاندار گردید. تصویربرداری از بدن با گالیوم- $^{67}\text{Ga}$  و توزیع زیستی نانوکامپوزیت پس از دوره‌های زمانی مختلف پس از تزریق مورد بررسی قرار گرفت. به علاوه پایداری نانوکامپوزیت در سرم انسانی تازه با استفاده از کروماتوگرافی کاغذی بررسی گردید.

## ۲. تجربی

### ۱,۲ سنتز اکسید گرافن

اکسید گرافن با استفاده از روش اصلاح شده هامر سنتز گردید. در یک نمونه روش آماده‌سازی پودر گرافیت ( $2/0\text{ g}$ ) و سدیم نترات ( $2/0\text{ g}$ ) در سولفوریک اسید ( $45\text{ cm}^3$ ) پراکنده شدند. با حفظ دمای زیر  $5^\circ\text{C}$ ،  $6/0$  گرم پودر پتاسیم پرمنگنات ( $\text{KMnO}_4$ ) به تدریج اضافه و به مدت ۲ ساعت تحت شرایط یکسان مخلوط شدند. آب دیونیزه افزوده و برای مدت ۳۰ دقیقه هم زده شد و سپس دما تا  $95^\circ\text{C}$  افزایش یافت و مخلوط برای مدت ۳۰ دقیقه در این دما، ثابت نگه داشته شد. با اضافه کردن  $300\text{ cm}^3$  آب دیونیزه، مخلوط داغ به دما  $40^\circ\text{C}$  سرد و برای پایان دادن به واکنش  $20\text{ cm}^3$  آب اکسیژنه ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) افزوده گردید. رنگ محلول به زرد انتقال یافت که نشان‌دهنده سنتز موفق اکسید گرافن می‌باشد. به منظور حذف یون‌های فلزی مخلوط با  $\text{HCl}$  رقیق شده شسته و فیلتر گردید. به علاوه برای تنظیم  $\text{PH}$  اکسید گرافن بر روی ۵، روش سانترفیوژ و شستشو مورد استفاده قرار گرفت. در نهایت پودر اکسید گرافن با خشک کردن نمونه‌های سانترفیوژ شده آماده گردید.

### ۲,۲ سنتز نانو هیبرید اکسید گرافن مگنتیت نشاندار ( $^{68}\text{Ga}$ @MGO)

نانو کامپوزیت‌های اکسید گرافن مگنتیت با استفاده از روش هم رسوبی ساخته شدند. در یک نمونه روش آماده سازی،  $100\text{ mg}$  از پودر اکسید گرافن در  $100\text{ cm}^3$  آب دیونیزه پراکنده گردید. روش حمام فراصوت به منظور پراکندگی محلول اکسید گرافن، برای ۳۰ دقیقه انجام گرفت. سپس محلول ترکیبی از  $\text{FeCl}_3$  و  $\text{FeCl}_2$  با نسبت ۱:۲ به صورت قطره قطره به محلول اکسید گرافن اضافه گردید. دمای حمام تا  $85^\circ\text{C}$  افزایش یافت و محلول آمونیاک ۳۰٪ برای بالا بردن  $\text{PH}$  بر روی ۱۰، به کار رفت. رسوب تهیه شده، به وسیله آهنربا که در پشت ظرف واکنش قرار گرفته از محلول جدا گردید. سپس دو مرتبه با استفاده از

اتانول خالص و آب شسته و تحت شرایط محیط خشک گردید. محلول دوشیده شده  $[^{68}\text{Ga}]\text{GaCl}_3$  از ژنراتور  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  در اتمسفر گاز نیتروژن در دمای  $60^\circ\text{C}$  برای حذف HCl خشک شد. ۳۰ mg اکسید گرافن مگنتیت به  $[^{68}\text{Ga}]\text{GaCl}_3$  با اکتیویته ۱/۱۱ GBq در محیطی از  $10\text{ cm}^3$  بافر سدیم استات با PH ۵/۵ اضافه گردید. سوسپانسیون حاصل به مدت ۰/۵ h رفلکس شد. به علاوه محصول نهایی به ستون تفکیک مغناطیسی انتقال یافت. با استفاده از میدان مغناطیسی با گرادیان بالا،  $[^{68}\text{Ga}]\text{GaCl}_3$  آزاد از ستون عبور داده و سپس بخش باقی مانده پس از حذف آهنربا با  $25\text{ cm}^3$  بافر سدیم استات با PH ۵/۵ از ستون شسته شد. پس از عبور محلول نهایی از فیلتر  $0.22\text{ }\mu\text{m}$ ، خلوص نانوکامپوزیت با کروماتوگرافی کاغذی معمولی بررسی گردید. (محلول  $0.1\text{ M DTPA}$  به عنوان فاز متحرک و کاغذ شماره ۲ واتمن به عنوان فاز ساکن). بازده نشاندارسازی ۸۳٪ (تصحیح تابش، زمان نشاندارسازی کل: ۴۵ دقیقه) و خلوص رادیوشیمیایی ۹۹٪ بدست آمد. توزیع زیستی نانوکامپوزیت نشاندار در ارگان‌های موش‌های نر نژاد Sprague Dawley® بلافاصله پس از تصویربرداری تعیین شد.

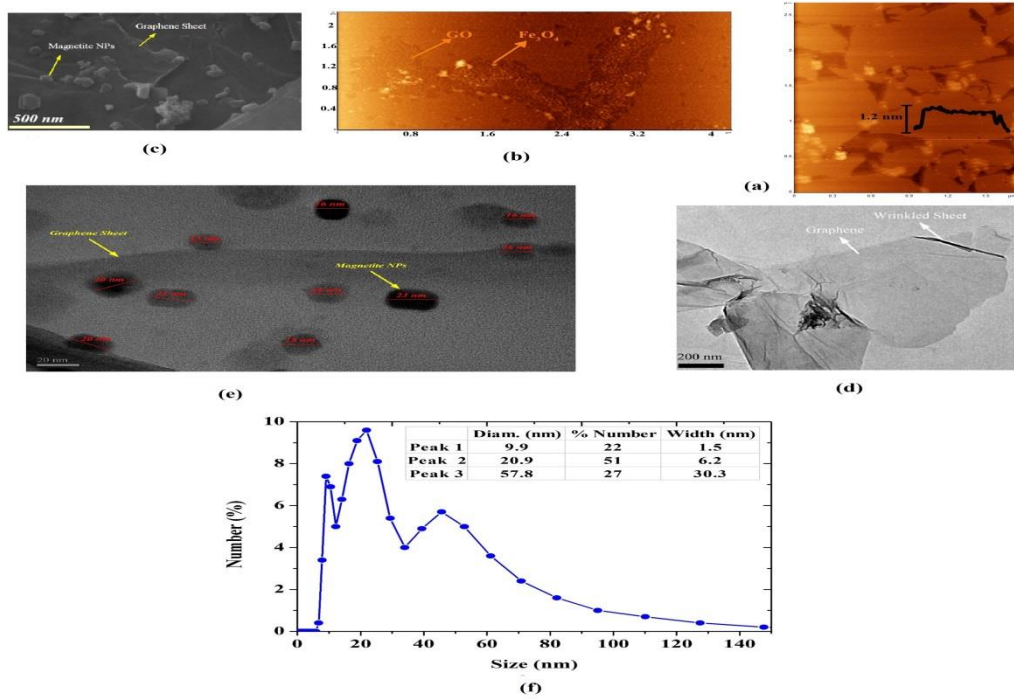
### ۳. نتایج و بحث

هدف اصلی از این مطالعه، توسعه مسیر سینتتیکی برای آماده‌سازی نانوذرات نشاندار و مشخصه‌یابی ساختاری و ارزیابی رفتار بیولوژیکی نانو کامپوزیت می‌باشد. برای دستیابی به هدف مورد نظر، روش سیستماتیکی انجام شد.

#### ۱،۳ سنتز و مشخصه‌یابی MGO

شکل ۱ یک نمونه از تصاویر AFM، TEM و SEM مربوط به GO و MGO را بر روی سطح میکا نمایش می‌دهد. ضخامت MGO و GO سنتز شده حدود ۱/۲ نانومتر اندازه‌گیری گردید که نشان‌دهنده تک لایه ورق گرافن می‌باشد. توزیع اندازه ذرات MGO، میانگین اندازه نانو ذرات را  $55 \pm 17\text{ nm}$  (بیشینه:  $3/5\text{ }\mu\text{m}$ ، کمینه:  $10\text{ nm}$ ). الگوی XRD مواد آماده شده در شکل ۲a نشان داده شده است. فاصله بین لایه‌ای از  $3/36\text{ \AA}$  ( $2\theta = 26^\circ$ ) در گرافیت به  $7/9\text{ \AA}$  ( $2\theta = 10/3^\circ$ ) در اکسید گرافن افزایش می‌یابد. الگوی XRD اکسید آهن مگنتیت، ۷ پیک مشخصه در  $30/1^\circ$ ،  $35/4^\circ$ ،  $37/1^\circ$ ،  $43/1^\circ$ ،  $53/4^\circ$  و  $56/9^\circ$  و  $62/5^\circ$  را نمایش می‌دهد که

با



صفحات (۲۲۰)، (۳۱۱)، (۲۲۲)، (۴۰۰)، (۴۲۲)، (۵۱۱) و (۴۴۰) ساختار کریستالی اکسید آهن مگنتیت متناظر است.

شکل ۱. تصاویر AFM مربوط به GO(a)، SEM، MGO(b) مربوط به MGO(c)، تصاویر TEM مربوط به GO(d) و MGO(e) و توزیع اندازه ذره نهایی (f)

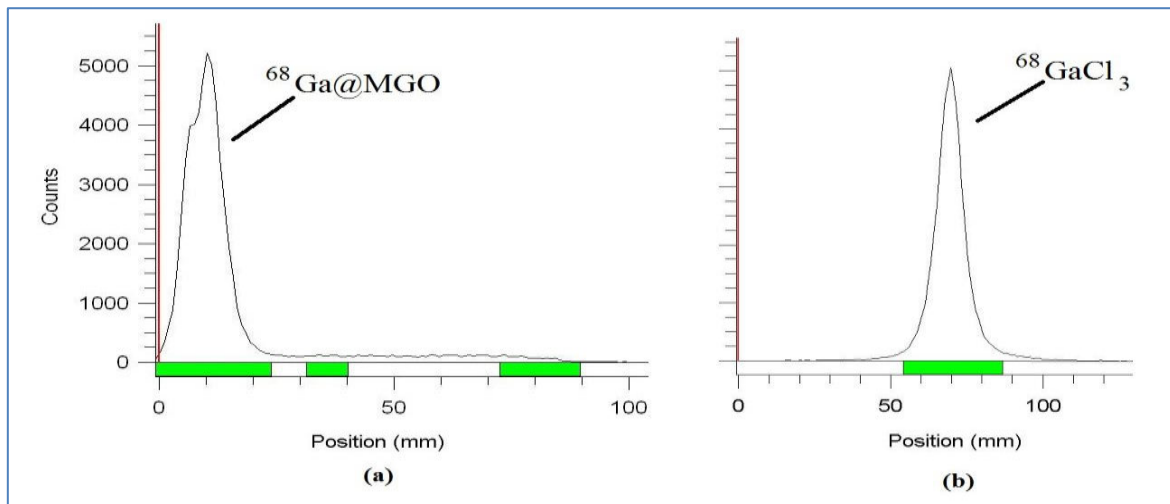
### ۲،۳ مشخصه یابی و کنترل کیفیت $[^{68}\text{Ga}]\text{@MGO}$

با استفاده از محلول ۰/۱ M DTPA، کامپوزیت نشاندار در مبدا کاغذ به صورت پیک تک باقی ماند. در حالی که گالیوم آزاد به  $R_f$  بالاتر ۰/۷۲ مهاجرت کرد (شکل ۲). ضریب تقسیم  $[^{68}\text{Ga}]\text{@MGO}$  (logP) در ۷ PH، ۲/۰۹ بود. انکوباسیون  $[^{68}\text{Ga}]\text{@MGO}$  در سرم انسانی تازه در دمای  $37^\circ\text{C}$  به مدت ۶ ساعت، اتلافی را برای  $[^{68}\text{Ga}]$  از کمپلکس نشان نمی دهد. خلوص رادیوشیمیایی کمپلکس تحت شرایط فیزیولوژیکی به مدت ۵ ساعت، ۹۸٪ باقی ماند. بنابراین پایداری شیمیایی  $[^{68}\text{Ga}]\text{@MGO}$  در فرمولاسیون نهایی و همچنین پایداری سرم انسانی به اندازه کافی برای انجام هر فعالیت پزشکی در مدت ۵ تا ۶ برابر نیمه عمر فیزیکی بالا بود.

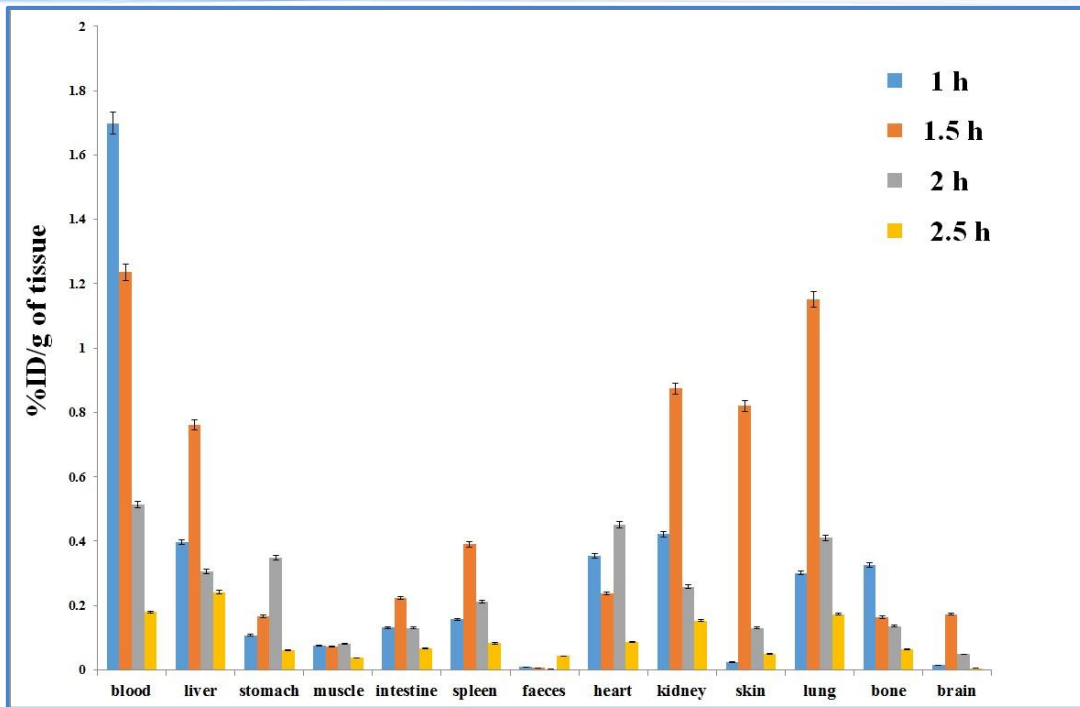
### ۳،۳ مطالعات درون تنی

موارد استفاده از شکل های مختلف اکسیدهای آهن پیوند یافته برای اهداف رادیولوژی مانند شناسایی نشت عروقی، رادیوسینوکتومی (RSV)، روش درمان هایپرترمی، تصویربرداری ماکروفاژو ردیابی سلول گزارش شده است. عامل دار کردن این نانومواد (با اندازه های مختلف) می تواند عملکرد سطح و نیز نفوذپذیری سلولی را بهبود دهد. داده های توزیع زیستی نانو ساختارهای نشاندار در ارگان های حیاتی موش های صحرایی در شکل ۳ نشان داده است. به سبب چربی دوستی بالای  $[^{68}\text{Ga}]\text{@MGO}$  ناشی از گرافن، اکتیویته کل در نانو ساختار ۱ ساعت پس از تزریق در خون، کلیه ها به علاوه کبد مشاهده می شود. بررسی های قبلی بر روی فارماکوکینتیک نانو ذرات ابرپارامگناطیس  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  نشاندار با  $^{67}\text{Ga}$  نشان می دهد که مسیر اصلی دفع SPION ها از طریق کبد می باشد. اگرچه درصد دز تزریقی به جرم  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  نشاندار با  $[^{67}\text{Ga}]$  برای کبد، شش، کلیه، طحال، خون و مغز یک ساعت پس از تزریق به ترتیب مقادیر ۱۶/۲، ۹/۸، ۰/۶، ۴/۷، ۲/۲ و ۰/۰۵ است. این داده ها برای  $[^{68}\text{Ga}]\text{@MGO}$  به ترتیب مقادیر ۰/۳۹، ۰/۳، ۰/۴۲، ۰/۱۵، ۱/۶۹ و ۰/۰۱۵ می باشند. مقایسه مجموعه داده ها نشان می دهد که پیوند نانو ذرات  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  جذب ناخواسته کبد و طحال را کاهش داده

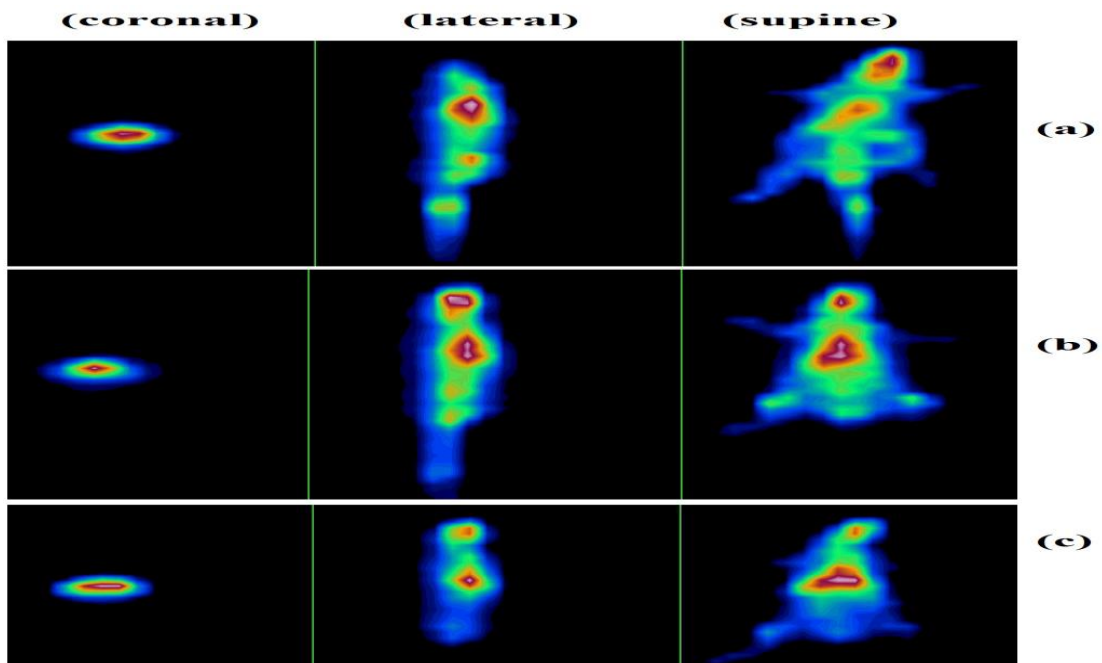
است. این امر منجر به حذف سریع رادیواکتیو و کمتر قرار گرفتن بیمار در معرض تابش می شود. سطح بالای پیوند هیدروژنی ناشی از حضور گروه های عاملی علت این اثر می باشد. تصویربرداری PET با استفاده از جداول زمانی یکسان برای  $^{68}\text{Ga}@MGO$  انجام گردید. براساس نتایج توزیع زیستی و تصاویر ۴، جذب قابل توجه مغز ۱ تا ۲/۵ ساعت پس از تزریق مشاهده شد. این تصاویر مطالعه توزیع زیستی را تایید کرد. تجمع قابل توجه اکتیویته در خون و استخوان و دیگر اندام ها، یک ساعت پس از تزریق ملاحظه گردید که توانایی ترکیب روش های تشخیصی مختلف مانند برش نگاری با گسیل پوزیترون (PET) و MRI را نشان می دهد.



شکل ۲. کروماتوگراف گالیوم-۶۸ نشاندار (a) و آزاد (b)



شکل ۳. توزیع زیستی ترکیب  $[^{68}\text{Ga}]\text{MGO}$



شکل ۴. تصویر برداری coincidence با استفاده از ترکیب  $[^{68}\text{Ga}]\text{@MGO}$ ، (a) ۱، (b) ۲ و ۲/۵

ساعت پس از تزریق

#### ۴. نتیجه گیری

نانوساختار  $[^{68}\text{Ga}]\text{@MGO}$  با موفقیت برای تصویر برداری هسته ای استفاده گردید و به عنوان یک عامل تشخیصی امیدوار کننده پیشنهاد می شود. مطالعه توزیع زیستی درون تنی در جوندگان، جذب بالای ارگان-های حیاتی بدن حیوانات و سپس دفع سریع بدن از طریق کلیه‌ها و کبد را نشان می دهد. به علت خواص عالی نانوساختار جدید آماده شده مانند نیمه عمر کوتاه رادیونوکلید  $^{68}\text{Ga}$ ، پیوند موثر اکسید آهن و دفع سریع بدن می توان آن را به عنوان یک نانوماده احتمالی برای اهداف تصویربرداری ارائه نمود.

مراجع

1-Yousef fazaeli, Zahra 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, 1-8, in press.

2-Yousef Fazaeli, Shahzad Feizi, Amir R Jalilian, Ali Hejrani, Grafting of  $[^{64}\text{Cu}]\text{-TPPF20}$  Porphyrin Complex on Functionalized Nano-porous MCM-41 Silica as a Potential Cancer Imaging Agent, Applied Radiation and Isotopes Volume 112, June 2016, Pages 13–19.

3- Yousef Fazaeli, Omid Akhavan, Reza Rahighi, etal . In vivo SPECT imaging of tumors by  $^{198,199}\text{Au}$ -labeled graphene oxide nanostructures, Materials Science and Engineering: C Volume 45, 1 December 2014, Pages 196–204.