

بررسی سمیت و فعالیت ضد باکتریایی نقاط کوانتومی کادمیم تلورید مورد استفاده در پزشکی هسته‌ای

سید یوسف فضائی^۱، غلامرضا شاه حسینی^{۱*}، سمیرا شهبازی^۲، حامد عسکری^۲، علیرضا نیسی^۲

۱- پژوهشکده کاربرد پرتوها، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران
۲- پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران.

چکیده: یکی از موارد استفاده عمده‌ی نقاط کوانتومی (QDs)، کاربرد آنها در توسعه نانوحسگرهای پزشکی است. تصویربرداری زیستی، دارورسانی هدفمند و درمان فتودینامیکی از جنبه‌های اصلی کاربرد این مواد است. توانایی تجمع در تومورها، سمیت سلولی، توانایی اتصال با رادیو ایزوتوپ‌ها و رفتار فلورسانس عواملی هستند که تعیین کننده نوع نقاط کوانتومی برای استفاده در پزشکی هسته‌ای به عنوان عوامل ترانوستیک هستند. در این مطالعه، اثرات ضد باکتری (کشندگی باکتریایی) غلظت‌های مختلف نمونه‌های نقاط کوانتومی کادمیوم تلورید/کادمیم سولفید، نقاط کوانتومی کادمیوم تلورید و نقاط کوانتومی کادمیوم تلورید آلیبده با گادولینیم بر روی باکتری‌های بیماریزا *E. coli* (PTCC 1330)، *S. typhi* (PTCC 1609) و *P. aeruginosa* (PTCC 1707) بررسی شد. نتایج نشان داد که تغییر ساختارهای هسته/پوسته نقاط کوانتومی، به طور قابل توجهی بر سمیت آنها تأثیر می‌گذارد.

واژگان کلیدی: نقاط کوانتومی، کادمیوم تلورید، اثر ضد باکتری

gshahhoseini@aeoi.org.ir

نگرانی در مورد سمیت سلولی نقاط کوانتومی در چند دهه گذشته یک موضوع مهم پژوهشی بوده است و گزارش‌های فراوانی در خصوص این سمیت و راه‌های کاهش آن ارائه شده است [۱۰]. نقاط کوانتومی و به خصوص کادمیم تلورید به دلیل تجمع بی‌مانند و سریع در بافت‌های سرطانی و ویژگی فیزیکی و شیمیایی قابل تنظیم در پزشکی هسته‌ای بسیار مورد توجه بوده‌اند [۱۱]. نقاط کوانتومی CdTe به دلیل آزاد شدن یون‌های کادمیم بسیار سمی هستند و باید مقادیر بسیار کم و دقیق از آنها در مصارف زیستی استفاده شود. بنابراین، ارائه روش‌هایی جهت کاهش مقدار سمیت این نانومواد بسیار ضروری است.

در پزشکی هسته‌ای از آنجایی که مقادیر بسیار کم (در حد چند میکروگرم) از نقاط کوانتومی برای نشاندارسازی و تزریق به بیمار استفاده می‌شود، عملاً سمیت ایجاد شده از این مواد قابل

۱- مقدمه

از موارد استفاده از نقاط کوانتومی، استفاده از این مواد در توسعه ابزار آلات نوری و آرایه‌های پزشکی است [۱-۳]. از جمله کاربردهای این نانومواد در زمینه زیست پزشکی می‌توان تصویربرداری زیستی [۴-۵]، دارورسانی هدفمند [۶-۷]، و درمان فتودینامیکی [۸-۹] را نام برد.

برخی استانداردهای مورد نیاز برای نانومواد برای استفاده در کاربردهای زیست پزشکی به شرح ذیل هستند:

الف- سازگاری زیستی ب- سمیت سلولی مناسب ج- خصوصیات فلورسانس مناسب و د- قابلیت نشاندار سازی با رادیوایزوتوپ‌ها و سایر عناصر دارای ویژگی شناساگری مانند گادولینیم.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۱۲

زمستان ۱۴۰۰ | شماره ۴ | سال هشتم

۴۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۱۰

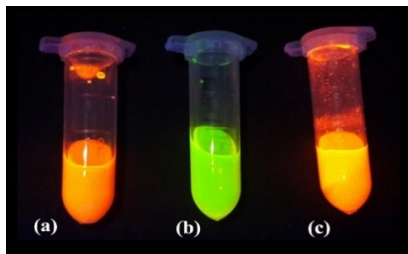
DOR: 20.1001.1.24235628.1400.8.4.5.0



۲-۲- بررسی اثر ضد باکتریایی

باکتری‌های مورد استفاده بصورت لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. فعال‌سازی هر یک از سوش‌های باکتری بر محیط نوترینت برات در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام شد. سپس از تک کلن‌های حاصل از فعال‌سازی برای واکنش‌های بعدی بر محیط نوترینت آگار استفاده شد.

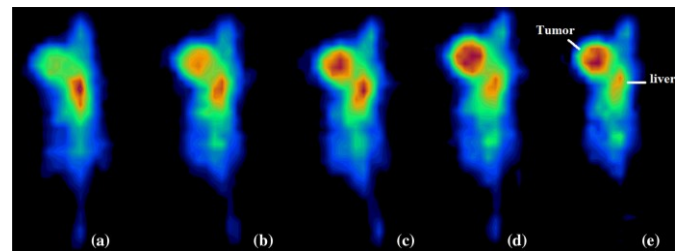
سه ترکیب کادمیم تلوراید/کادمیم سولفید (S1)، کادمیم تلوراید (S2) و کادمیم تلورید با روکش آلاییده با گادولینیم (S3) با غلظت‌های متفاوت از ترکیبات (۰، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرو گرم در میلی‌لیتر) با استفاده از آب مقطر استریل تحت شرایط اسپتیک تهیه شد (شکل ۲) و برای انجام آزمون‌های فعالیت ضد باکتریایی در محیط مایع و نشت در آگار مورد استفاده قرار گرفت. باکتری‌های واکنش شده در محیط نوترینت برات پس از ۴۸ ساعت نگهداری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و رسیدن به دانسیته جذب نوری ۱ به محیط تازه نوترینت برات به مقدار ۵٪ (وزنی/حجمی) تلقیح شدند. از غلظت‌های متفاوت نمونه‌های نقاط کوانتومی به نسبت ۱:۱۰ به هر لوله آزمایش افزوده شد تا غلظت نهایی نمونه‌ها در هر لوله آزمایش معادل ۰، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ شود (شکل ۳). سپس، همه نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۲۴ ساعت در سرعت هم‌زدن ۱۵۰ rpm گرمخانه‌گذاری شد. دانسیته نوری هر نمونه با استفاده از دستگاه طیف‌سنجی (Jenway, USA) در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانده شد.



شکل ۲: نمونه‌های استوک نقاط کوانتومی تهیه شده تحت نور فرابنفش ۳۶۰ نانومتر، (a): S1، (b): S2، و (c): S3 در غلظت ۱ mg/ml

چشم‌پوشی است و در انجام این آزمایش‌ها مطالعات سمیت شناسی خاصی لازم نیست (حتی از سم کشنده‌ترین عقرب‌ها نیز به عنوان حامل رادیوایزوتوپ‌ها استفاده می‌شود). این درحالیست که در روش‌های ترانوستیک (روش‌های تشخیصی-درمانی که از ادغام روش‌های تصویربرداری هسته‌ای با سایر روش‌های درمانی یا تشخیصی مانند فتودینامیک تراپی استفاده می‌شود)، به دلیل مقادیر بالای استفاده شده از نانومواد حتماً سمیت نقاط کوانتومی مورد توجه قرار گیرد. با توجه به طراحی و کاربرد سه رادیوداروی موفق در سال‌های اخیر، در پژوهشگاه علوم فنون هسته‌ای با استفاده از نقاط کوانتومی کادمیم تلورید و عملکرد بسیار مناسب آنها در تشخیص بسیار سریع توده‌های سرطانی (شکل ۱)، بر آن شدیم تا با اندازه‌گیری دقیق مقدار سمیت این نقاط کوانتومی بهترین آن‌ها را برای تهیه رادیوداروهای ترانوستیک مشخص کنیم [۱۲-۱۴].

بر این اساس در این مطالعه، اثرات ضد باکتری (کشندگی باکتریایی) غلظت‌های متفاوت نمونه‌های نقاط کوانتومی کادمیم تلورید/کادمیم سولفید، نقاط کوانتومی کادمیم تلورید و نقاط کوانتومی کادمیم تلورید آلاییده با گادولینیم بر باکتری‌های بیماری‌زای *E. coli* (PTCC 1330)، *S. typhi* (PTCC 1609)، و *P. aeruginosa* (PTCC 1707) بررسی شد.



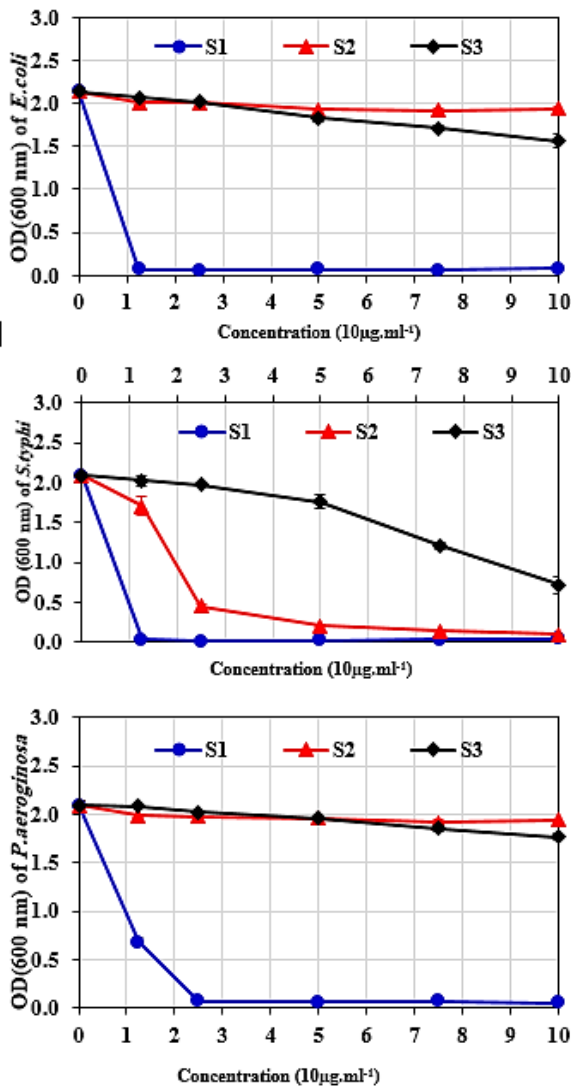
شکل ۱: تصویربرداری هسته‌ای PET با استفاده از نقاط کوانتومی کادمیم تلورید [۱۲]

۲- بخش تجربی

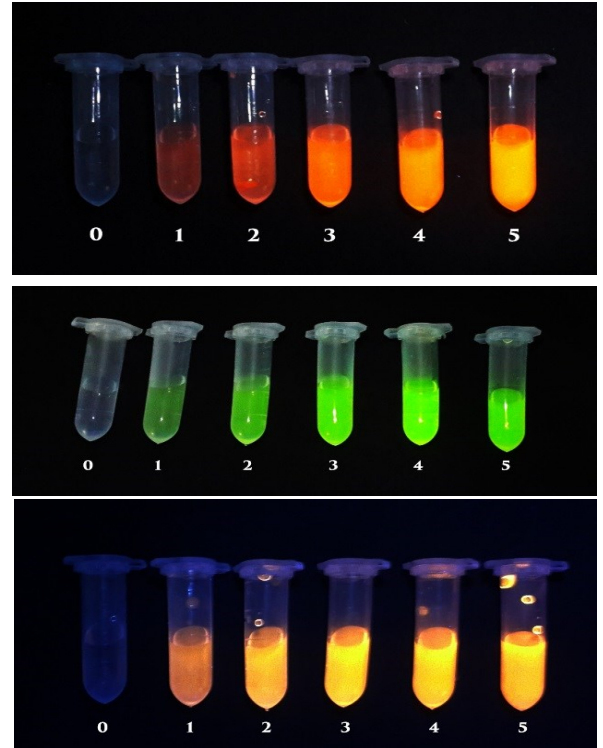
۲-۱- سنتز نقاط کوانتومی

نقاط کوانتومی کادمیم تلورید/کادمیم سولفید، نقاط کوانتومی کادمیم تلورید و نقاط کوانتومی کادمیم تلورید آلاییده با گادولینیم مطابق با روش‌های استفاده شده پیشین این گروه پژوهشی تهیه شد [۱۲-۱۴].

ضد باکتریایی برای هر یک از سه ترکیب S¹, S² و S³ در سطح ۵٪ دارای تفاوت معنی داری است (شکل ۴).



شکل ۴: فعالیت ضد باکتریایی ترکیبات QDS با غلظت های (۰، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ µg/ml) در آزمون کشت مایع بر روی سه جدایه باکتری Escherichia coli, Salmonella typhi and Pseudomonas aeruginosa



شکل ۳: نمونه های رقیق شده نقاط کوانتومی (به ترتیب در غلظت های (۰، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ µg/ml) تحت نورفرا بنفش ۳۶۰ نانومتر، (a) S¹, S² و S³ (b) و (c): S³ و S², S¹)

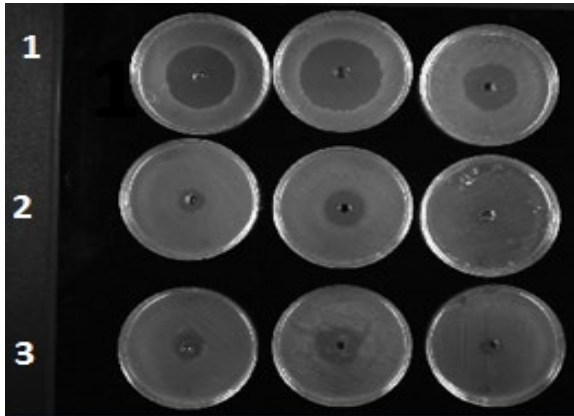
باکتری های واگشت شده در محیط نوترینت براث پس از ۴۸ ساعت نگهداری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و رسیدن به دانسیته جذب نوری ۱، با استفاده از سوپ به محیط تازه نوترینت آگار که از قبل چاهک در آنها با استفاده از چوپ پنبه سوراخ کن در شرایط استریل ایجاد شده بود، کشت چمنی داده شد. در داخل هر چاهک به مقدار ۱۰ میکرولیتر از غلظت های معین تهیه شده از ترکیب نقاط کوانتومی تلقیح و سپس، همه نمونه ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد برای مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شد. قطر هاله ممانعت از رشد در اطراف چاهک هر نمونه با استفاده از کولیس دیجیتالی اندازه گیری شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- نتایج آزمون کشت مایع

مقایسه مقدار جذب نور فرابنفش قرائت شده در طول موج ۶۰۰ نانومتر برای سه باکتری (با سه مرتبه تکرار آزمایش) و برای سه ترکیب S¹, S² و S³ انجام شد و نتایج نشان داد مقدار فعالیت

همانطور که در شکل ۴ مشاهده می شود، نقاط کوانتومی کادمیم تلوراید / کادمیم سولفید (S¹) بالاترین مقدار فعالیت ضد باکتریایی را روی هر سه جدایه باکتری مورد مطالعه نشان داد و در غلظت ۱۲/۵ µg/ml رشد کلنی در دو گونه S. typhi و E. coli را به طور کامل متوقف کرده است. باکتری P. aeruginosa که مقاومت بیشتری از خود نشان داده است، در غلظت ۲۵ µg/ml کاملاً از بین رفته است.



شکل ۵: فعالیت ضد باکتریایی ترکیبات QDs (ستون چپ جدایه باکتری *E. coli*، ستون وسط جدایه باکتری *S. typhi* و ستون سمت راست جدایه باکتری *P. aeruginosa*) با غلظت ۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ در آزمون نشت در آگار: بر سه ترکیب S1، S2 و S3.

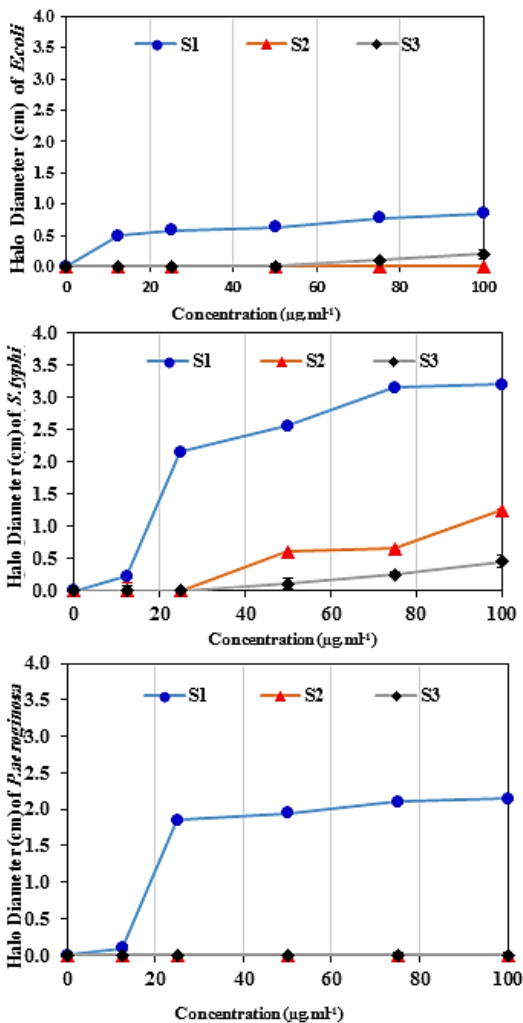
اما در آزمون نشت در آگار از غلظت ۱۲/۵ $\mu\text{g/ml}$ ترکیب S1 هاله شفاف در کشت باکتری *P. Aeruginos* مشاهده شد و تا غلظت ۲۵ $\mu\text{g/ml}$ روند این ممانعت از رشد ادامه صعودی داشت و در غلظت ۵۰ $\mu\text{g/ml}$ روند این ممانعت از رشد باکتری متوقف شد. باکتری *E. coli* نیز که در آزمون کشت مایع تا غلظت ۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ مقاومت نشان داده بود، در آزمون نشت در آگار نیز تا این غلظت به رشد خود ادامه داد و هاله شفاف ناشی از عدم رشد این باکتری در برابر S2 مشاهده نشد. اما در برابر ترکیب S3 از غلظت ۷۵ $\mu\text{g/ml}$ به بالا هاله شفاف ناشی از عدم رشد باکتری نمایان شد. باکتری *S. typhi* که حساس ترین باکتری به کلیه ترکیبات در آزمون کشت مایع بود، در آزمون نشت در آگار برای هر سه ترکیب هاله ناشی از عدم رشد نشان داد. در برابر ترکیب S1 که بالاترین فعالیت باکتری کشی را دارا بود از غلظت ۱۲/۵ $\mu\text{g/ml}$ هاله شفاف پدیدار شد و با افزایش غلظت این ترکیب قطر هاله ناشی از عدم رشد باکتری به طور تصاعدی بالاتر رفت. بیشترین مقدار ممانعت از رشد باکتری در آزمون نشت در آگار برای *S. typhi* و S1 مشاهده شد. در برابر دو ترکیب S2 و S3 تا غلظت ۱۲/۵ $\mu\text{g/ml}$ هاله شفاف مشاهده نشد اما با افزایش غلظت این ترکیبات شیب افزایش قطر ناحیه عدم رشد باکتری در برابر S2 بالاتر از ترکیب S3 بود تا جایی که در غلظت ۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ مقدار ممانعت از رشد باکتری *S. typhi* در برابر S2 دو برابر S3 رسید.

این در حالی است که باکتری *E. coli* تا غلظت ۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ در مقابل دو ترکیب نقاط کوانتومی کادمیم تلورید (S2) و نقاط کوانتومی کادمیم تلورید آلیاژ با گادولینیم (S3) مقاومت نشان داد، اما رشد *S. typhi* در محیط مایع حاوی ۷۵ $\mu\text{g/ml}$ ترکیب S2 متوقف شد، اما روند نزولی رشد *S. typhi* در محیط حاوی ترکیب S3 تا غلظت ۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ به صفر نرسید. بر اساس مجموع داده‌های حاصل از آزمون ممانعت از رشد باکتری‌ها در محیط کشت مایع می‌توان نتیجه گرفت کمترین مقدار باکتری کشی مربوط به ترکیب S3 است که تقریباً همه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مورد بررسی قادر به رشد در غلظت‌های متفاوت این ترکیب بودند و بیشترین قدرت باکتری کشی مربوط به ترکیب S1 بود. مقدار حساسیت باکتری‌ها نیز بالطبع متفاوت بود و در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری را نشان داد و باکتری *S. typhi* حساس ترین و *P. aeruginosa* مقاوم ترین باکتری به این ترکیبات بود.

۲-۳- نتایج آزمون نشت در آگار

این آزمون که از طریق اندازه‌گیری مقدار هاله شفاف ایجاد شده ناشی از عدم رشد باکتری در اطراف چاهک‌های حاوی سه ترکیب S1، S2 و S3 انجام شد، وجود تفاوت معنی‌دار بین توانایی ممانعت از رشد باکتری را بین سه ترکیب در سطح آماری ۵٪ نشان داد (شکل ۵). همانطور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود در این آزمون از غلظت‌های ۱۲/۵-۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ سه ترکیب استفاده شد.

نتایج آزمون نشت در آگار نیز با نتایج آزمون کشت در محیط مایع مطابقت داشت بطوری که باکتری *P. aeruginosa* که در کشت مایع به همه ترکیبات بجز S1 تا غلظت ۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ مقاومت نشان داده بود و ترکیب S2 و S3 همچنان به رشد خود ادامه داده است و قطر هاله شفاف اطراف چاهک‌های حاوی دو ترکیب S2 و S3 صفر باقی ماند که معنی رشد کامل باکتری در کنار این دو ترکیب است.



شکل ۶: فعالیت ضد باکتریایی ترکیبات نقاط کوانتومی با غلظت های (۰، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ µg/ml) در آزمون نشت در آگار بر سه جدایه باکتری *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* and *Pseudomonas aeruginosa*

در مجموع ترکیب S1 در آزمون نشت در آگار نیز بالاترین توانایی ممانعت از رشد باکتری را در برابر هر سه باکتری مورد بررسی (گرم مثبت و گرم منفی) دارا بود و S3 پایین ترین فعالیت را از خود نشان داد و *S. typhi* حساس ترین باکتری و *P. aeruginosa* مقاوم ترین باکتری به این ترکیبات بودند.

با توجه به سنتز هر سه نوع کوانتوم دات به صورت مشابه و اندازه هر سه نوع که کمتر از ۵ نانومتر است. مشاهده می شود که افزودن لایه سولفید کادمیم بر هسته کادمیم تلورید باعث افزایش سمیت این نانوذرات می شود و اتم های گوگرد با توجه به سایز کوچکترشان نسبت به اتم های تلوریم توانایی پایدار نمودن اتم های کادمیم را نداشته و باعث آزادسازی بیشتر آنها شده و سمیت را به شدت افزایش می دهند. این حقیقت نیز در مورد اتم های سنگین گادولینیم بر لایه خارجی کادمیم تلورید صدق کرده و مشاهده می کنیم که با افزودن لایه پوششی گادولینیم سمیت کادمیم تلورید به شدت کاهش می یابد.

۴- نتیجه گیری

با توجه به کاهش مقدار سمیت با استفاده از اثر حفاظتی یون های خارجی و قابلیت استفاده از گادولینیم در تصویربرداری دقیق رزونانس مغناطیسی هسته (MRI) به همراه تصویربرداری توموگرافی با نشر پوزیترون (PET) در دستگاه PET/MRI، استفاده از این لایه خارجی می تواند افزون بر در اختیار قرار دادن قابلیت تصویربرداری PET و MIR باعث کاهش بسیار مطلوب سمیت این نانومواد شود.

مراجع

- [1] M. Clift, V. Stone, "Quantum dots: an insight and perspective of their biological interaction and how this relates to their relevance for clinical use," *Theranostics*, 2, 668-80, 2012.
- [2] D. Wu, J. Lu, Y. Ma, Y. Cao, T. Zhang, "Mitochondrial dynamics and mitophagy involved in MPA-capped CdTe quantum dots-induced toxicity in the human liver carcinoma (HepG2) cell line," *Environmental Pollution*, 274, 115681-115702, 2021.

semiconductor QDs enabling remarkable 102 production for tumor-targeted photodynamic therapy,” *Biomaterials*, 148, 31-40, 2017.

[10] X. Li, X. Yang, L. Yuwen, W. Yang, L. Weng, Z. Teng, L. Wang, “Evaluation of toxic effects of CdTe quantum dots on the reproductive system in adult male mice,” *Biomaterials*, 96, 24-32, 2016.

[11] Y. Hu, H. Li, P. Meng, K. Li, Y. Xiong, Sh. Zhang, Y. Yang, A. Yin, P. Huang,, “Interactions between CdTe quantum dots and plasma proteins: Kinetics, thermodynamics and molecular structure changes,” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 189, 110881-84, 2020.

[12] Y. Fazaeli, H. Zare, Sh. Karimi, R. Rahighi, Sh. Feizi, “Novel aspects of application of cadmium telluride quantum dots nanostructures in radiation oncology,” *Applied Physics A*, 123, 507-516, 2017.

[13] Y. Fazaeli, H. Zare, Sh. Karimi, Sh. Feizi, “⁶⁸Ga CdTe/CdS fluorescent quantum dots for detection of tumors: investigation on the effect of nanoparticle size on stability and in vivo pharmacokinetics,” *Radiochimica Acta*, 108, 565-572, 2020.

[14] Sh. Gharghani, H. Zare, Z. Shahedi, Y. Fazaeli, R. Rahighi, “Synthesis of Magnetic Ions-Doped QDs Synthesized via a Facial Aqueous Solution Method for Optical/MR Dual-Modality Imaging Applications,” *Journal of Fluorescence*, 31, 897-906, 2021.

[3] X. Kong, R. Cheng, J. Wang, Y. Fang, K. Hwang, “Nanomedicines inhibiting tumor metastasis and recurrence and their clinical applications,” *Nano Today*, 36, 101004-27, 2021.

[4] V. Venkatachalama, S. Ganapathya, Th. Subramanib, I. Perumalc, “Aqueous CdTe colloidal quantum dots for bio-imaging of *Artemia* sp,” *Inorganic Chemistry Communications*, 128, 108510-57, 2021.

[5] N. Xu, M. Piao, K. Arkin, L. Ren, J. Zhang, J. Hao, Y. Zheng, Q. Shang, “Imaging of water soluble CdTe/CdS core-shell quantum dots in inhibiting multidrug resistance of cancer cells,” *Talanta*, 201, 309-316, 2019.

[6] M. Akbari, M. Rahimi-Nasrabadi, S. pourmasud, M. Eghbali-Arani, H. Reza Banafshe, Farhad Ahmadi, M. Ganjali, A. Sobhani nasab,, “CdTe quantum dots prepared using herbal species and microorganisms and their anti-cancer, drug delivery and antibacterial applications; a review,” *Ceramics International*, 46, 9979-9989, 2020.

[7] E. Oliveira, H. Santos, S. Jorge, B. Rodríguez-González, F. Novio, J. Lorenzo, D. Ruiz-Molina, J. Capelo, C. Lodeiro, “Sustainable synthesis of luminescent CdTe quantum dots coated with modified silica mesoporous nanoparticles: Towards new protein scavengers and smart drug delivery carriers,” *Dyes and Pigments*, 161, 360-369, 2019.

[8] D. Aydın Tekdaş, M. Durmuş, H. Yanık, V. Ahsen, “Photodynamic therapy potential of thiol-stabilized CdTe quantum dot-group 3A phthalocyanine conjugates (QD-Pc),” *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 93, 313-320, 2012.

[9] Y. Shen, Y. Sun, R. Yan, E. Chen, H. Wang, D. Ye, J. Xu, H. Chen, “Rational engineering of



Evaluation of toxicity and antibacterial activity of cadmium telluride quantum dots used in nuclear medicine

Yousef Fazaeli¹, Gholamreza Shahhosseini^{*2}, Samira Shahbazi², Hamed Askari², Alireza Neisi²

1. Radiations Application Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute (NSTRI), Atomic Energy Organization of Iran (AEOI), Karaj, Iran
2. Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute (NSTRI), Atomic Energy Organization of Iran (AEOI), Karaj, Iran

Abstract: A major use of quantum dots (QDs) is their use in the development of biomedical nanosensor applications. Bioimaging, targeted drug delivery, and photodynamic therapy are main aspects of the applications of these materials. Four factors determine that which QDs are suitable for use in nuclear medicine applications as theranostics: (1) the ability to accumulate in tumors, (2) cytotoxicity, (3) ability to bind with radioisotopes and (4) fluorescence behavior.

In this study, the bactericide effects of different concentrations of QDs sample (CdTe/CdS, CdTe and CdTe/Gd) were evaluated on pathogenic bacteria (*E. coli* (PTCC 1330), *S. typhi* (PTCC 1609) and *P. aeruginosa* (PTCC 1707)). The results showed that altering core/shell structures of QDs affected the toxicity of them considerably.

Keywords: Quantum dots, cadmium telluride, antibacterial effect