



Synthesis of carbon quantum dots from natural sources of spinach leaves and chitosan: investigating their application in bioimaging

Seyed Hossein Beheshti Shoushtari

Department of Biochemistry, Faculty of Biological Sciences, Trabiati Modares University, Tehran, Iran

Place of research: Department of Biochemistry, Faculty of Biological Sciences, Trabiati Modares University, Tehran, Iran

Article Info

Abstract

Article History:

received 07.21.2023
revised 08.25.2023
accepted 09.11.2023
online 12.18.2023

KeyWords:

Carbon dot
hydrothermal
bioimaging
gene therapy

*Corresponding author:

E-mail address

s.h.beheshti1994@gmail.com

Introduction: Carbon dots (CDs) are one of the most important fluorescence nanoparticles, which usually have a diameter of less than 10 nanometers. The characteristics of these nanoparticles include high biocompatibility, low toxicity and chemical inertness, stable light emission. These nanoparticles are used in various fields of biology, including biosensors, drug delivery, and imaging are used.

Aim: In this research, the aim is to make and investigate the characteristics, biocompatibility and imaging capability of CDs synthesized from spinach leaves and chitosan by hydrothermal method.

Materials and methods: In this experimental study, the synthesis of CDs from spinach leaves and chitosan was synthesized by hydrothermal method, and then the emission of nanoparticles was observed by the UV region; The maximum amount of absorption and emission was obtained, and the size and type of charge of nanoparticles were determined by DLS device. The viability of HEK-293T cells was evaluated by different concentrations of nanoparticles. After synthesis and characterization of synthesized CDs, its non-toxicity was checked on HEK-293T cells by MTT method. Also, the penetration of nanoparticles into the cell and the possibility of staining the cell by CDs were measured by the Citation device.

Results: CDs synthesized with spinach extract and chitosan had emission in the red and blue range, respectively; The maximum emission wavelength of nanoparticles synthesized from spinach was observed at 670 nm wavelength, which is very favorable for cell imaging. Also, both nanoparticles are biocompatible and can stain HEK-293T cells without toxicity. CDs synthesized using chitosan are suitable for future gene delivery applications due to positive surface charge.

Conclusion: CDs synthesized with spinach extract and chitosan have emission in the visible region and can stain cells as cell-compatible nanoparticles.

Cite this article: Beheshti Shoushtari S.H. Synthesis of carbon quantum dots from natural sources of spinach leaves and chitosan: investigating their application in bioimaging. Iranian Journal of Biological Sciences. 2023; 18(2): 21-32

doi 10.30495/zisti.2023.1991694.1167

DOR 20.1001.1.17354226.1402.18.2.1.0

Publisher: Islamic Azad University of Varamin – Pishva branch

Print ISSN: 1735-4226

Online ISSN: 1727-459X

This is an open access article under the: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



سننر نقاط کوانتومی کربنی از منابع طبیعی برگ اسفناج و کیتوسان: بررسی کاربرد آن‌ها در تصویربرداری زیستی

سید حسین بهشتی شوشتری

گروه بیوشیمی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

محل انجام تحقیق: ۱. گروه بیوشیمی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخچه مقاله

ارسال ۱۴۰۲/۰۴/۳۰

بازنگری ۱۴۰۲/۰۶/۰۳

پذیرش ۱۴۰۲/۰۶/۲۰

نمایه ۱۴۰۲/۰۹/۲۷

کلمات کلیدی

کربن‌دات

هیدروترمال

تصویربرداری زیستی

ژن رسانی

* نویسنده مسؤل

s.h.beheshti1994@gmail.com

مقدمه: بکربن‌دات‌ها (CDs) یکی از مهم‌ترین نانوذرات فلورسانس هستند که معمولاً قطر کمتر از ۱۰ نانومتر دارند و ویژگی‌های این نانوذرات شامل زیست‌سازگاری بالا، سمیت کم و بی‌اثری شیمیایی، پایداری نشر نور است این نانوذرات در حوزه‌های مختلف زیست‌شناسی شامل حسگرهای زیستی، انتقال دارو و تصویربرداری کاربرد دارند.

هدف: در این پژوهش هدف ساخت و بررسی ویژگی‌ها و زیست‌سازگاری و قابلیت تصویربرداری CDs سننر شده از برگ گیاه اسفناج و کیتوسان به روش هیدروترمال است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی سننر CDs از برگ گیاه اسفناج و کیتوسان به روش هیدروترمال سننر شد و سپس نشر نانوذرات توسط ناحیه UV مشاهده گشت؛ حداکثر میزان جذب و نشر به دست آمد و همچنین اندازه و نوع بار نانوذرات توسط دستگاه DLS مشخص شد. زنده‌مانی سلول‌های HEK-۲۹۳T توسط غلظت‌های مختلف نانوذرات مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از سننر و مشخصه‌یابی CDs‌های سننر شده عدم سمیت آن بر روی سلول‌های HEK-۲۹۳T با روش MTT بررسی شد. همچنین نفوذ نانوذرات به سلول و امکان رنگ‌آمیزی سلول توسط CDs دستگاه سایتیشن سنجیده شد.

نتایج: CDs‌های سننر شده با عصاره اسفناج و کیتوسان به ترتیب دارای نشر در محدوده قرمز و آبی بودند؛ بیشینه طول موج نشر نانوذرات سننر شده از اسفناج در طول موج ۶۷۰ نانومتر مشاهده شد که این طول موج این نانوذرات جهت تصویربرداری از سلول بسیار مطلوب است. هر دو نانوذره دارای زیست‌سازگاری هستند و می‌توانند بدون اثر سمیت سلول HEK-۲۹۳T را رنگ‌آمیزی کنند. همچنین CDs‌های سننر شده با استفاده از کیتوسان به دلیل بار سطحی مثبت برای کاربردهای آینده ژن رسانی مناسب می‌باشند.

نتیجه‌گیری: CDs‌های سننر شده با عصاره اسفناج و کیتوسان دارای نشر در ناحیه مرئی هستند و می‌توانند به عنوان نانوذرات سازگار با سلول، سلول‌ها را رنگ نمایند.

شبهه آدرس‌دهی این مقاله: بهشتی شوشتری س.ح. سننر نقاط کوانتومی کربنی از منابع طبیعی برگ اسفناج و کیتوسان: بررسی کاربرد آن‌ها در تصویربرداری زیستی. مجله دانش زیستی ایران. ۱۴۰۲؛ ۱۸(۲): ۲۱-۳۲

doi 10.30495/zisti.2023.1991694.1167

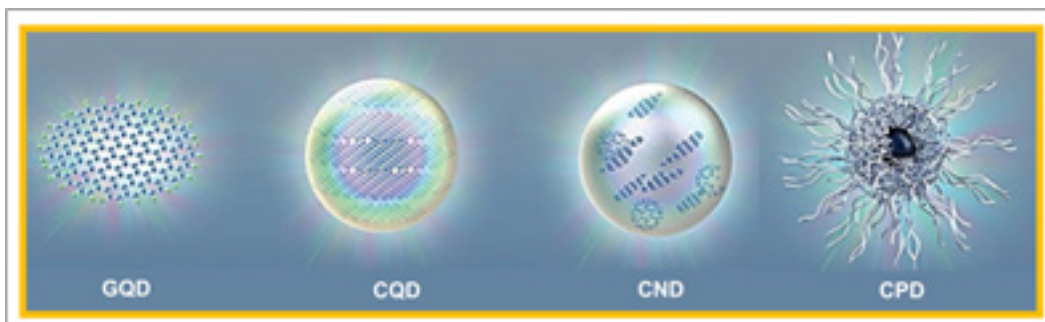
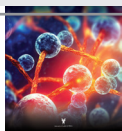
DOR 20.1001.1.17354226.1402.18.2.1.0

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا | چاپا چاپی: ۱۷۳۵-۴۲۲۶ | چاپا الکترونیکی: ۲۷۱۷-۴۵۹X | نویسنندگان: © حق مؤلف

مقدمه:

است (۳، ۱۰). ازدیگر ویژگی های CDs می توان به ویژگی نشر فلورسانس آن ها اشاره کرد که یکی از جذاب ترین ویژگی های این نانوذرات است که در بسیاری از زمینه ها مورد استفاده قرار گرفته است. همچنین این نانوذرات قابلیت فعالیت فتوکاتالیستی را نیز دارا هستند به طور گسترده این نانوذرات در زمینه فتوکاتالیستی برای بهبود فعالیت کاتالیزورها استفاده می شوند. CDs می توانند به عنوان حسگرهای زیستی (۱۱)، ابزاری جهت انتقال ژن (۱۲)، حامل های دارو (۱۳-۱۴) و پروب های تصویربرداری زیستی (۱۵-۱۶) به دلیل خواص فلورسانس عالی، زیست سازگاری خوب و سمیت کم مورد استفاده واقع شوند. خواص فلورسانس مطلوب CDs پتانسیل زیادی برای کاربردها در شیمی تحلیلی، به ویژه در سنجش و تصویربرداری محیطی و بیولوژیکی نشان داده است (۱۶-۱۷). تا به امروز، چندین روش برای سنتز CDs در دسترس است. به طور کلی دو تکنیک برای سنتز این نانوذرات وجود دارد: از بالا به پایین و پایین به بالا. مواد حجیم با استفاده از تکنیک بالا به پایین برای تشکیل ذرات در اندازه نانو تجزیه می شوند. از سوی دیگر، تکنیک پایین به بالا شامل تشکیل ذرات در اندازه نانو با ترکیب اتم ها یا مولکول ها به شکل های مفید است. تخلیه قوس، لیزر فرسایش، کربنیزاسیون، هیدروترمال، میکروویو، روش فراصوت، پیرولیز، روش الکتروشیمیایی و اکسیداسیون شیمیایی از جمله این رویکردها هستند (۱). سنتز هیدروترمال به طور گسترده برای ساخت نقاط کوانتومی کربن (CQD) مورد استفاده قرار گرفته است. به طور کلی، طی این روش اندازه متوسط CDs با استفاده از غلظت های پیش ساز خاص، دمای پردازش و زمان واکنش قابل کنترل است. (۱۸) به علت غیر سمی بودن CDs، فلورسانس بودن و همچنین سازگاری بالا، این نانوذرات برای تصویربرداری *in vivo* نیز بسیار کاربرد دارند (۱۹-۲۱). در این پژوهش هدف ساخت و بررسی ویژگی ها و زیست سازگاری و قابلیت تصویربرداری CDs سنتز شده از برگ گیاه اسفناج و کیتوسان به روش هیدروترمال است.

نقاط کوانتومی کربنی (CQD) یا به بیان دیگر کربن دات ها (CDs) عضو جدیدی از مواد کربن فلورسانس با قطر کمتر از ۱۰ نانومتر هستند. آنها دارای هسته های آمورف تا نانو کریستالی و معمولاً به شکل شبه کروی هستند. (۱) پیش بینی می شود این ذرات کوانتومی به دلیل ترکیب و زیست سازگاری می تواند به یک جایگزین امیدوارکننده برای کوانتوم دات های مبتنی بر فلز (MQD) تبدیل شوند (۲). طبقه بندی CDs بر اساس ساختار هسته کربنی، گروه های عملکردی سطح و خواص آنها است. CDs ها به نقاط کوانتومی کربنی (CQD)، نقاط کوانتومی گرافن (GQDs)، نانو نقطه های کربنی (CNDs)، و نقاط پلیمری کربنیزه (CPDs) طبقه بندی می شوند (شکل ۱). CDs، نانوکورهایی هستند که ماهیت کریستالی دارند و تعداد زیادی گروه شیمیایی را نشان می دهند که حالت ذاتی لومینسانس و اثر محصور شدن کوانتومی کربن دات ها را ایجاد می کنند (۳-۵). CDs ویژگی های بسیار متفاوتی دارند که در ادامه به برخی از ویژگی های مهم آن ها اشاره خواهد شد. یکی از ویژگی های CD ها جذب نوری این نانوذرات است که به دلیل وجود تعاملات $\pi-\pi^*$ انتقال پیوندهای $C=C$ در ساختار CDs، سبب جذب آنها در ناحیه طول موج کوتاه می شود. CDs جذب نوری بالایی در ناحیه ۲۶۰ تا ۳۲۰ نانومتر (یعنی در ناحیه UV) را نشان می دهند (۷). محدوده جذب آنها ممکن است بسته به نوع CDs، به دلیل گروه های عملکردی سطح و همچنین غیرفعال شدن سطح آنها متفاوت باشد (۶). یکی دیگر از ویژگی های کربن دات ها خاصیت کمولومینسانس (CL) است، طی این پدیده نور از طریق یک واکنش شیمیایی تولید می شود. تحت شرایط مناسب در واکنش ردوکس (احیایی)، CDs می توانند CL را در حلال های آبی تولید کنند، جایی که محصولات ناپایدار از رادیکال های میانی در طول CL تولید می شوند (۳). CDs می توانند CL را به دلیل تحریک آنها پس از اکسیداسیون مستقیم و یا از طریق افزایش یا مهار لومینسانس خود تولید کنند (۸-۹). همچنین این نانوذرات قادر به انتشار فوتون در ناحیه مرئی تحت تحریک الکتریکی هستند که برای مطالعه خاصیت الکتروشیمیومینسانس (ECL) آنها مهم



شکل ۱ طبقه بندی سی دی ها. GQD: نقطه کوانتومی گرافن. CQD: نقطه کوانتومی کربن. CND: نانو نقطه کربن؛ CPD: نقطه پلیمر کربنیزه شده (۶).

مواد و روش ها

مواد مورد استفاده

برگ اسفناج از بازار محلی، کیتوسان از شرکت Sigma و اتانول، استون و استیک اسید از شرکت Merck تامین شد

تعیین ویژگی

روش سنتز CDs بر پایه کیتوسان

روش مورد استفاده برای سنتز نانوذرات، روش هیدروترمال است برای سنتز CDs بر پایه کیتوسان ۱ گرم کیتوسان به ۴ میلی لیتر استیک اسید یک درصد اضافه شد و در نهایت با آب مقطر به حجم ۴۰ میلی لیتر رسید. در دمای ۸۰ درجه به مدت ۳۰ دقیقه روی استیرر قرار گرفت و به غلظت نهایی کیتوسان ۲۵ mg/ml به دست آمد. در نهایت pH محلول به ۶ رسانده شد. محلول نهایی به تفلون و سپس اتوکلاو منتقل شد و به مدت ۴ ساعت تحت دمای ۱۵۰ درجه سانتی گراد در آون قرار گرفت. روش سنتز CDs بر پایه برگ اسفناج جهت سنتز CDs بر پایه اسفناج، گیاه اسفناج از فروشگاه های محلی گرفته شد، پس از سه بار شستشو با آب مقطر، به تکه های کوچک خورد شد و در دستگاه آمیوه گیری آب آن ها گرفته شد سپس از کاغذ واتمن ۳ برای فیلتر کردن و جدا کردن ذرات درشت استفاده شد سپس با نسبت ۱:۱:۱ با اتانول و استون ترکیب شد. محلول به دست آمده در تفلون ریخته شد و درون اتوکلاو قرار گرفت و به مدت ۴ ساعت در دمای ۱۵۰ درجه درون آون قرار گرفت.

جذب و نشر

جهت بررسی محدوده و شدت نشر نور، ابتدا CDs سنتز شده با غلظت ۵ mg/ml در حلال آبی تهیه شدند و با دستگاه ژل داگ تحت تاثیر نور در محدوده فرابنفش (UV) مشاهده گشتند و پس از آن از هر نمونه حجم ۱۰۰ میکرو لیتر در پلیت ۹۶ خانه مشکی اضافه شد و به کمک دستگاه Cytation ۳ Cell Imaging Reader حد اکثر میزان جذب و نشر کربن دات ها سنجیده شد. اندازه و بار سطحی

تعیین سایز و بار سطحی نانوذرات به کمک دستگاه DLS zeta sizer malvern انجام شد. در این آزمایش از غلظت ۵ mg/ml استفاده گشت همچنین حجم مورد نیاز برای این آزمایش برای هر نانوذره معادل ۷۰۰ میکرو لیتر است.

بررسی اثر سمیت نانوذرات

جهت تعیین اثر سمیت یا زیست سازگاری کربن دات ها سنجش MTT صورت گرفت. به منظور انجام این سنجش ابتدا سلول های HEK-۲۹۳T در فلاسک T۲۵ با محیط DMEM High Glucose، سرم جنین گاوی ۱۰ درصد (FBS)

تصویربرداری

ابتدا سلول های HEK-293T با محیط کشت DMEM High Glucose حاوی ۱۰ درصد سرم گاوی داده پلیت کشت شدند سپس نمونه های کربن دات تهیه شده بر پایه کیتوزان و بر پایه برگ اسفناج در غلظت های ۱۰ mg/ml و ۱ mg/ml به سلول ها جهت تصویر برداری اضافه شد. پس از ۲۴ ساعت و شستشوی سلول ها با بافر فسفات تصویر برداری با کمک دستگاه Cytation ۳ Cell Imaging Reader با فیلترهای Texas red GFP, DAPI, Bright Field انجام گرفت

برند Gibco کشت شدند پس از سومین پاساژ سلول ها در پلیت ۹۶ خانه کشت شدند به طوری که در هر چاهک (Well) ۷۵۰۰ سلول وجود داشت و پس از مدت زمان ۲۴ ساعت و رسیدن سلول ها به تراکم ۷۰ درصد CD های سنتز شده از اسفناج و کیتوسان به ترتیب با غلظت های ۱/۶۵ تا ۰/۵۷ و ۰ تا ۳ به صورت تکرار به هر چاهک اضافه شد سپس ۲۴ ساعت انکوباسیون انجام گرفت و پس از برداشت محیط روی هر چاهک و افزودن ۱۰ میکرولیتر محلول MTT. نمونه ها با محلول MTT به مدت دو ساعت انکوبه شدند و پس از آن و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه شد و جذب نمونه ها توسط دستگاه الیزا ریدر در طول موج ۵۷۰ نانومتر انجام گرفت

نتایج

جذب و نشر

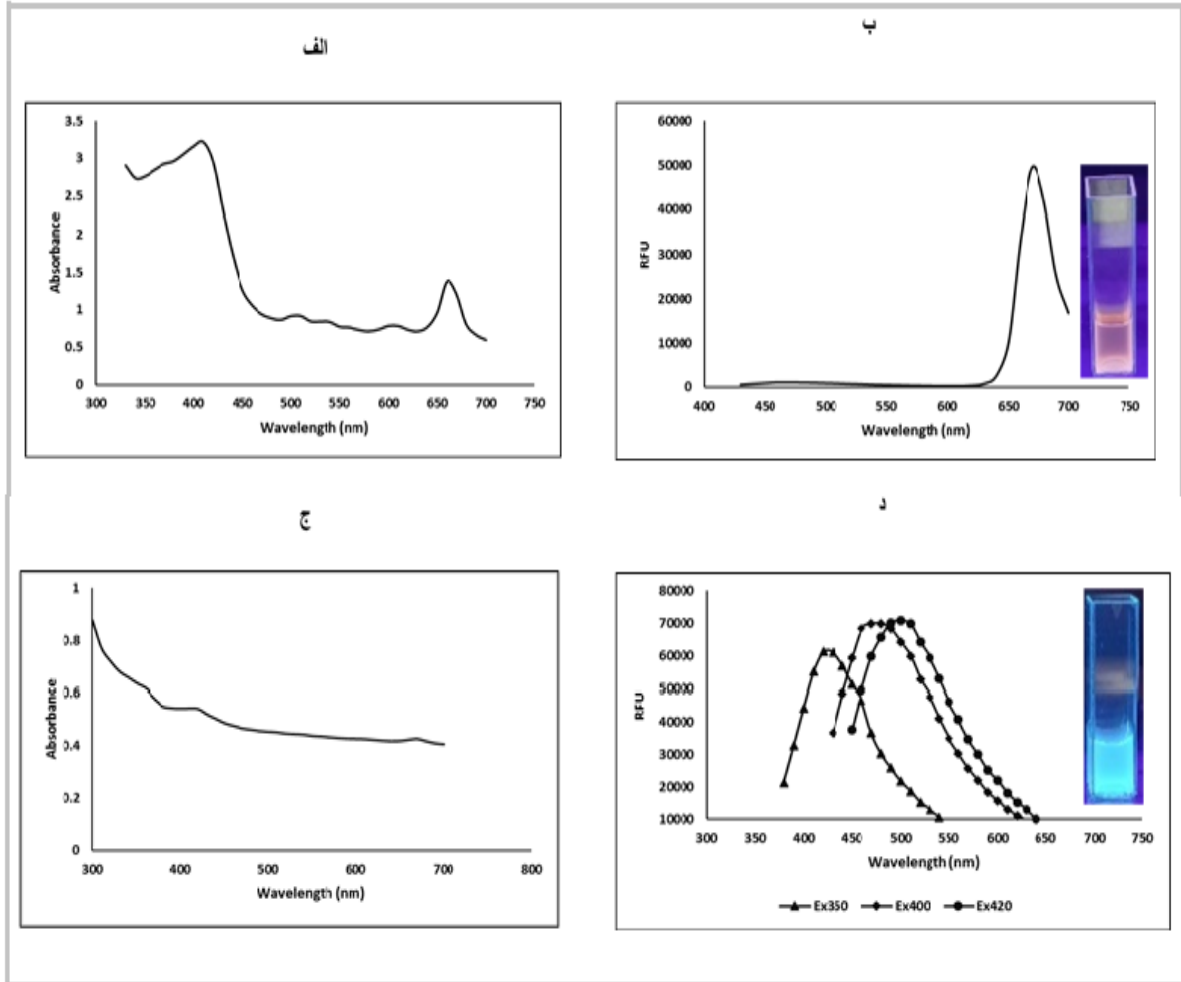
اندازه CDs سنتز شده توسط دستگاه DLS اندازه گیری شد. اندازه CDs های سنتز شده از اسفناج در حدود ۱-۰/۶ نانومتر است همچنین اندازه CDs های سنتز شده از کیتوسان نیز غالباً حدود ۰/۷ نانومتر است (شکل ۳). نوع بار سطحی CDs بسته به هدف استفاده از این نانو ذرات می تواند اهمیت داشته باشد CDs سنتز شده از اسفناج دارای بار ۶/۴۱- میلی ولت و CDs سنتز شده از کیتوسان دارای بار ۱۰/۹+ میلی ولت است (شکل ۴)؛

تصویربرداری

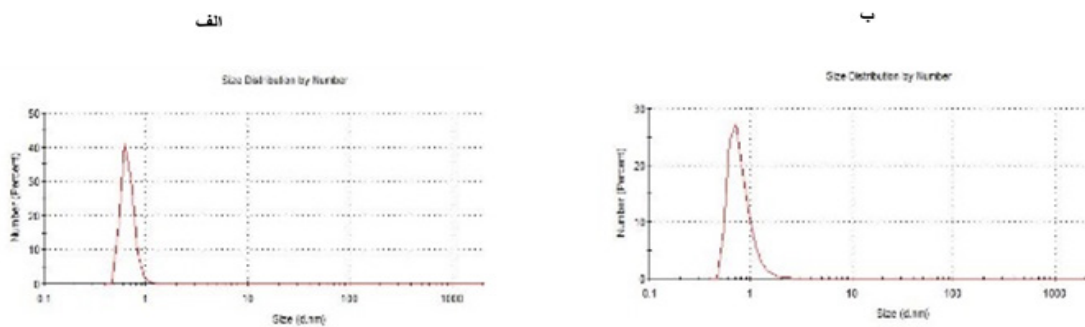
پس از کشت سلول ها و تیمار با نانو ذرات سنتز شده از سلول ها تصویربرداری شد. نقاط نورانی در تصاویر نماینگر سلول هایی است که CDs به درون آنها نفوذ کرده و نشر فلورسانس رخ داده است. بر این اساس در تصویر سلول هایی که با CDs تیمار نشدند هیچ نقطه نورانی وجود نداشت. تصاویر نشان داد سلول های تیمار شده با CDs های تهیه شده از برگ اسفناج در غلظت ۱/۶۵ mg/ml نشر قابل توجهی دارند (شکل ۵ الف) همچنین سلول های تیمار شده با CDs های تهیه شده از کیتوسان در غلظت ۱/۶۵ mg/ml نیز دارای میزان اندکی نشر در ناحیه قرمز می باشد (شکل ۵ ب) البته میزان نشر این نانو ذره نسبت به نوع تهیه شده با اسفناج بسیار کمتر است.

پس از ساخت CDs در شرایط ذکر شده محلول به دست آمده زیر نور UV مشاهده شد CDs سنتز شده از اسفناج تحت اثر ناحیه UV دارای نشر در ناحیه قرمز و CDs سنتز شده از کیتوسان در ناحیه UV دارای نشر در ناحیه آبی است. طیف نشری ناحیه قرمز به علت طول موج بیشتر و به دنبال آن عمق نفوذ بیشتر می تواند جهت تصویر برداری بسیار کاربردی باشد. جهت بررسی بیشتر CDs طیف جذبی و نشری آن ها بررسی شد بیشینه میزان جذب در CDs تشکیل شده از اسفناج در به ترتیب در دو ناحیه ۴۰۰ نانومتر و ۶۶۰ نانومتر است (شکل ۲ الف)؛ همچنین بیشترین میزان نشر این CDs در ناحیه ۶۷۰ نانومتر است (شکل ۲ ب). به عبارت دیگر این CD دارای نشر قرمز است. در CDs تشکیل شده از کیتوسان نیز بیشینه میزان جذب در ناحیه ۴۲۰ نانومتر به دست آمد (شکل ۲ ج) همچنین پس از اندازه گیری طیف نشری مشخص شد که این CDs به ترتیب برانگیختگی (excitation) در طول موج ۴۲۰ و ۳۵۰، ۴۰۰ است که به ترتیب دارای نشر (emission) در ناحیه ۵۰۰ و ۴۲۵، ۴۷۵ نانومتر است. (شکل ۲ د)

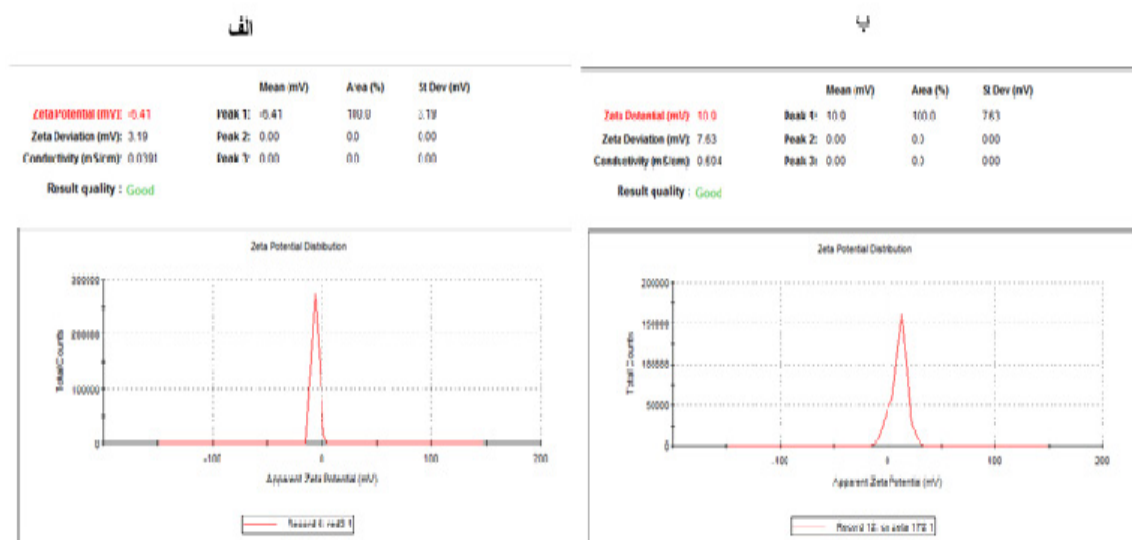
بار سطحی CDs



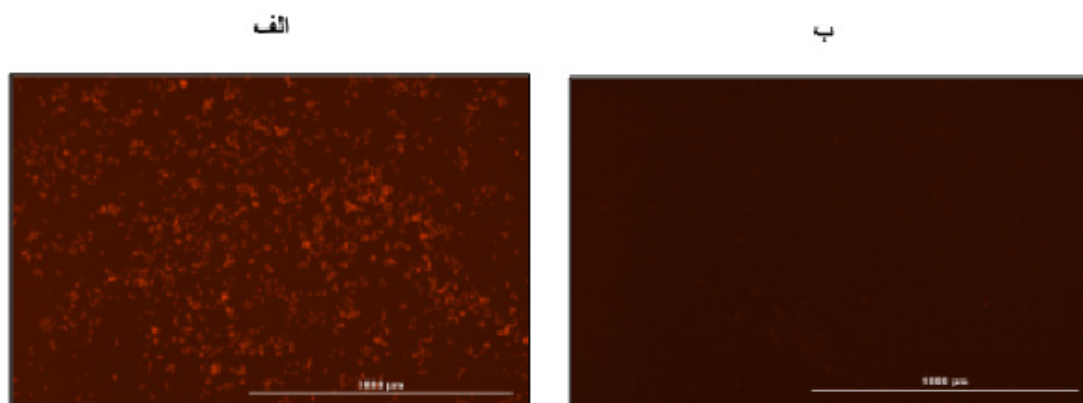
شکل ۲: نمودارها و تصاویر مربوط به جذب و نشر CDs بر پایه اسفناج و کیتوسان (الف) نمودار جذب CDs بر پایه اسفناج در بازه ۳۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر (ب) نمودار نشر و همچنین رنگ نشر CDs بر پایه اسفناج . (ج) نمودار جذب CDs بر پایه کیتوسان در بازه ۳۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر (د) نمودار نشر و همچنین رنگ نشر CDs بر پایه کیتوسان



شکل ۳: تصاویر نمودارهای اندازه نانوذرات سنتز شده. (الف) نمودار CDs سنتز شده از اسفناج (ب) نمودار CDs سنتز شده از کیتوسان. بیشترین فراوانی هر دو نانوذره در بازه زیر ۱ نانومتر مشاهده شده شد.



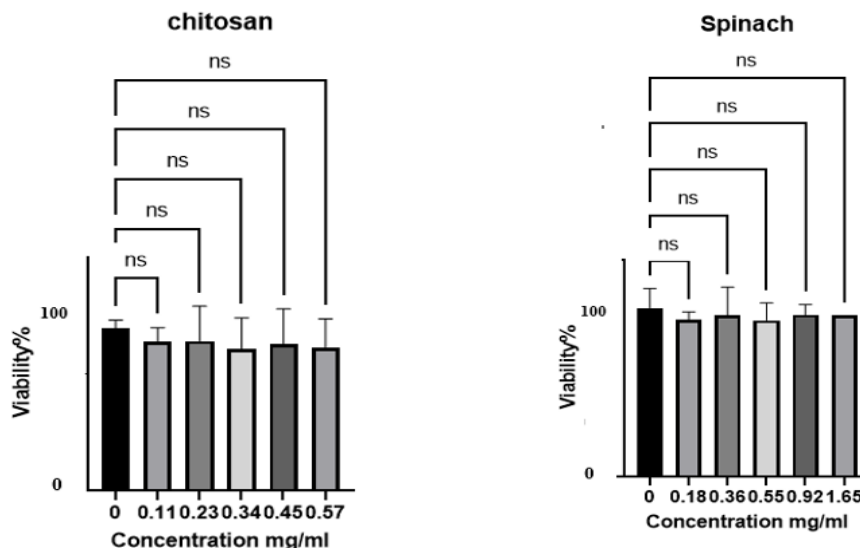
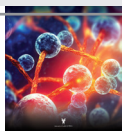
شکل ۴ میزان بار سطحی نانوذرات الف) بار سطحی CDs سنتز شده از اسفناج برابر ۶,۴۱ - میلی‌ولت (ب) بار سطحی CDs سنتز شده از کیتوسان معادل ۱۰,۹ + میلی‌ولت است.



شکل ۵ نتیجه حاصل از تصویربرداری CD سنتز شده از اسفناج و کیتوسان (الف) اسفناج (ب) کیتوسان

بررسی میزان سمیت CDs بر رده سلولی HEK-T۲۹۳

جهت بررسی اثر سمیت CDs سنجش MTT انجام گرفت. نتایج حاصل از MTT با در نظر گرفتن $P > 0.05$ نتوانست تفاوت معناداری را در استفاده از غلظت‌های مختلف نانوذرات نمایش دهد. به عبارت دیگر نانوذرات ساخته شده در مجاورت سلول فاقد سمیت هستند و برای غلظت‌های مختلف از CDs درصد بالایی از زنده مانی سلول‌ها مشاهده شد؛ نتایج به دست آمده بدین معناست که افزودن نانوذرات به سلول‌ها موجب آسیب به سلول‌ها نخواهد شد (شکل ۶).



شکل ۶ نمودار ها نمایش دهنده میزان زنده‌مانی سلول HEK-293T تحت تاثیر CDs سنتز شده از اسفناج و کیتوسان نتایج به دست آمده زیست‌سازگاری این ترکیبات را تایید می‌تایید.

بحث

سلولی تومور، تبدیل‌پذیری بار را به دست آورد و منجر به تحویل دارو با هدایت تصویربرداری شود. CDs های قابل تبدیل نه تنها راحت‌تر وارد سلول می‌شوند و فعال سازی موثر پیش‌داری سیس پلاتین در سیتوزول احیاکننده را نشان می‌دهند، بلکه قابلیت مهار رشد تومور قوی و عوارض جانبی کمی را در داخل بدن را برجای می‌گذارند (۲۴) همچنین در مطالعه دیگری Ruan و همکاران نشان داده شد، CDs های PEGylated با استفاده از گلوکز و اسید گلوتامیک به عنوان پیش‌سازها توسعه یافتند، این CDs های آماده شده به طور خاص می‌توانند سلول های گلیوما را از طریق شناسایی گروه سطحی آنژیوپپ-۲ لنگر به دام بیاندازند و در نتیجه تصویربرداری با حساسیت بالاتری را برای آنژیوپپ-۲ ایجاد کنند (۲۵). در این پژوهش هدف ساخت نانوذرات کربنی مبتنی بر روش سنتز سبز بود که بتواند جهت تصویربرداری و دارورسانی نقش ایفا کند. پس از سنتز نانوذرات ابتدا تعیین رنگ نثری و سایر ویژگی های آنها به دست آمد.

نقاط کربن (CDs) کلاس جدیدی از نانومواد هستند که اخیراً توجه بالایی را به خود جلب کرده‌اند، زیرا همان ویژگی‌های سودمند اصلی نقطه‌های کوانتومی نیمه‌هادی، مانند پایداری نور بالا و انتشار قابل تنظیم را ارائه می‌دهند. با این حال، در مقایسه با نقاط کوانتومی نیمه‌هادی، CDs ها حلالیت آبی عالی، زیست‌سازگاری بالا و تولید ارزان تر از خود نشان می‌دهند (۲۱). CDs همچنین خواص فلورسنت قابل توجه، پایداری نوری بالا و سمیت سلولی کم را نشان می‌دهند که می‌تواند برای تصویربرداری سلولی استفاده شود برخی تحقیقات نشان داده اند که CDs برای تصویربرداری نوری در موش های زنده مناسب هستند (۱۵) این نانوذرات پتانسیل بسیار خوبی برای استفاده به عنوان کاوشگر برای تجزیه و تحلیل سیستم های بیولوژیکی نشان داده اند، به ویژه برای کاربردهای زیست پزشکی با هدایت تصویربرداری جذاب هستند (۲۲-۲۳). با افزایش تقاضا برای عوامل بیولوژیکی فلورسنت خاص، Feng و همکارانش یک نانوحامل حاوی پیش‌داری سیس پلاتین مبتنی بر CDs را طراحی کردند که می‌توانست با تغییر pH ریزمحیط خارج

همچنین پس از اندازه گیری طیف نشری مشخص شد که این CDs به ترتیب برانگیختگی (excitation) در طول موج ۴۲۰ و ۴۰۰، ۳۵۰ است که به ترتیب دارای نشر (emission) در ناحیه ۵۰۰ و ۴۷۵، ۴۲۵ نانومتر است. این CDs دارای بار مثبت هستند و می‌توان از این نانوذره جهت ژن رسانی و یا انتقال داروهای دارای بار منفی استفاده نمود. اندازه هر دو CDs سنتز شده در بازه زیر ۱ نانومتر است. برخی مطالعات نشان می‌دهند برای افزایش بازده کوانتومی CDs در مناطق قرمز و مادون قرمز نزدیک، استفاده از هترواتم‌هایی مانند نیتروژن و گوگرد می‌تواند موثر واقع شود (۳۰-۲۸) پس از تعیین ویژگی‌های اولیه نانوذرات بررسی میزان سمیت آن‌ها در سلول در غلظت‌های مختلف در رده سلولی HEK-۲۹۳T توسط سنجش MTT انجام شد که در نهایت زیست‌سازگاری CDs برای رده سلولی HEK-۲۹۳T اثبات گشت. رده سلولی انتخاب شده یک رده سلولی نرمال است و در این پژوهش ترجیح بر استفاده از رده سلولی نرمال بود چراکه رده‌های سلولی مدل مثل رده سلولی سرطانی ممکن است دارای شرایط غیر عادی باشند. از میان نانوذرات سنتز شده CDs ساخته شده از اسفناج به خوبی توانست به سلول نفوذ کند و موجب نشر سلول شود. با وجود مطالعات گسترده در این حوزه، هنوز مشکلات حیاتی در سنتز و کاربرد CDs وجود دارد که باید حل شوند. تولید CDs با ساختارها و مورفولوژی‌های کاملاً تعریف شده و داشتن درک روشنی از مکانیسم واکنش دقیق آماده سازی یکی از چالش‌هاست همچنین بهبود کارایی هدف‌گیری با کمک گروه‌های عملکردی سطح نانوذرات و درک مکانیسم‌های تصویربرداری هدفمند چالش‌برانگیزترین مسائل در تصویربرداری سلولی توسط CDs است (۳۰)

رنگ نشری CDs در تصویر برداری بسیار مهم است CDs منتشر کننده رنگ قرمز (RCD)، به دلیل مزایای منحصر به فرد خود، مانند توانایی نفوذ به بدن حیوانات بدون اختلال در اتوفلورسانس قوی یافت، بسیار حائز اهمیت هستند (۲۶). با توجه به اینکه نشر در محدوده قرمز مربوط به CDs اسفناج دارای طول موج بلندتر می‌باشند همچنین با محدوده نشری فلورسانس ذاتی اجزای سلولی فاصله دارند به وضوح نشر نور قابل مشاهده است در حالیکه نشر مربوط به کربن دات‌های کیتوسان در محدوده مرئی و سبز تا آبی است علاوه بر طول موج نشری کوتاه، با فلورسانس ذاتی اجزا و محیط سلولی مانند ترکیبات موجود در سرم همپوشانی دارند که سبب خاموشی نشر نور آن‌ها می‌شود و نور ساطع شده از سلول‌ها به وضوح مشاهده نمی‌شود. در مطالعات گذشته نیز نشر در ناحیه قرمز مشاهده شده بود البته در تفاوت مطالعه انجام شده با مطالعات گذشته عدم وجود افزودنی‌هایی همچون PEI است. (۲۷). بیشینه میزان جذب در CDs تشکیل شده از اسفناج به ترتیب در دو ناحیه ۴۰۰ نانومتر و ۶۶۰ نانومتر است و بیشترین میزان نشر این CDs در ناحیه ۶۷۰ نانومتر است. به عبارت دیگر این CD دارای نشر قرمز است. به نظر می‌رسد رنگ قرمز این نانوذره به علت طول موج بلند موجب شده است تا بتوان به خوبی از سلول‌ها تصویربرداری کرد. CDs سنتز شده از اسفناج علی‌رغم کیفیت مناسب جهت تصویربرداری دارای بار منفی است و اگرچه می‌تواند جهت تصویربرداری و دارورسانی گزینه نسبتاً مناسبی باشد اما احتمالاً نمی‌تواند حامل مناسبی برای ژن رسانی مورد استفاده قرار گیرد. البته به نظر می‌رسد بتوان با تغییراتی در سنتز و گروه‌های روی سطح نانوذره بتوان بار آن‌را جهت ژن رسانی اصلاح نمود. CDs سنتز شده از کیتوسان نیز دارای بیشینه جذب در ناحیه ۴۲۰ نانومتر هستند

نتیجه گیری

کربن دات‌ها (CDs) یکی از مهم‌ترین نانوذرات فلورسانس هستند که معمولاً قطر کمتر از ۱۰ نانومتر دارند ویژگی‌های این نانوذرات شامل زیست‌سازگاری بالا، سمیت کم و بی‌اثری شیمیایی، پایداری نشر نور است این نانوذرات در حوزه‌های مختلف زیست‌شناسی شامل حسگرهای زیستی، انتقال دارو و تصویربرداری کاربرد دارند. طی این پژوهش CDs با روش هیدروترمال سنتز شدند و پس از تعیین ویژگی‌های CDs میزان سمیت و امکان نفوذ و نشر سلول بررسی شد. CDs های سنتز شده با عصاره اسفناج و کیتوسان به ترتیب دارای نشر در محدوده قرمز و آبی بودند؛ بیشینه طول موج نشر نانوذرات سنتز



شده از اسفناج در طول موج ۶۷۰ نانومتر مشاهده شد که این طول موج جهت تصویربرداری از سلول بسیار مطلوب است. همچنین هر دو نانوذره دارای زیست سازگاری هستند و می‌توانند بدون اثر سمیت به سلول‌های HEK-۲۹۳T نفوذ کرده و موجب نشر از سلول‌های ذکر شده شوند البته میزان نشر CDs های سنتز شده با عصاره اسفناج بسیار بیشتر از CDs های سنتز شده با عصاره کیتوسان است. CDs های سنتز شده با استفاده از کیتوسان به دلیل بار سطحی مثبت برای کاربردهای آینده ژن رسانی مناسب می‌باشند

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که تعارض منافی در این مطالعه وجود نداشته است

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از جناب آقای دکتر سامان حسینخانی، سرکار خانم دکتر فرنگیس عطایی و سرکار خانم دکتر الهام کریمی که ما را در انجام این تحقیق یاری کردند، صمیمانه تشکر می‌کنیم.

References

1. Kumar A, Kumar I, Gathania AK. Synthesis, characterization and potential sensing application of carbon dots synthesized via the hydrothermal treatment of cow milk. *Sci Rep*. 2022;12(1):22495
DOI: 10.1038/s41598-022-26906-4.
2. Baker SN, Baker GA. Luminescent carbon nanodots: emergent nanolights. *Angew Chemie Int Ed*. 2010;49(38):6726–44
DOI: 10.1002/anie.200906623.
3. Wang Y, Hu A. Carbon quantum dots: synthesis, properties and applications. *J Mater Chem C*. 2014;2(34):6921–39
DOI: 10.1039/C4TC00988F.
4. Wang X, Feng Y, Dong P, Huang J. A mini review on carbon quantum dots: preparation, properties, and electrocatalytic application. *Front Chem*. 2019;7:671
DOI: 10.3389/fchem.2019.00671
5. Hamdi, Rasakh, Behnam, Tajbakhsh, Yazdian, Qaba. Evaluation of nitrate bioremoval by *Thiobacillus denitrificans* in the presence of zero-valent iron nanoparticles stabilized with carbon quantum dots (CQD-Fe0). *Iranian Journal of Biological Sciences*. 2021;16(2):1–14
DOR: 20.1001.1.17354226.1400.16.2.1.6
6. Mansuriya BD, Altintas Z. Carbon Dots: Classification, properties, synthesis, characterization, and applications in health care—An updated review (2018–2021). *Nanomaterials*. 2021;11(10):2525
DOI:10.3390/nano11102525.
7. Bhartiya P, Singh A, Kumar H, Jain T, Singh BK, Dutta PK. Carbon dots: Chemistry, properties and applications. *J Indian Chem Soc*. 2016;93(7):759–66
DOI:10.1021/acsami.5b08089.
8. Liu M. Optical properties of carbon dots: a review. *Nanoarchitectonics*. 2020;1–12
DOI:10.37256/nat.112020124.1-12.
9. Jorns M, Pappas D. A review of fluorescent carbon dots, their synthesis, physical and chemical characteristics, and applications. *Nanomaterials*. 2021;11(6):1448
DOI:10.3390/nano11061448.
10. Anwar S, Ding H, Xu M, Hu X, Li Z, Wang J, et al. Recent advances in synthesis, optical properties, and biomedical applications of carbon dots. *ACS Appl Bio Mater*. 2019;2(6):2317–38
DOI:10.1021/acsabm.9b00112.
11. Lin L, Rong M, Luo F, Chen D, Wang Y, Chen X. Luminescent graphene quantum dots as new fluorescent materials for environmental and biological applications. *TrAC trends Anal Chem*. 2014;54:83–102
DOI:10.1016/j.trac.2013.11.001.

al. Nano-carrier for gene delivery and bioimaging based on carbon dots with PEI-passivation enhanced fluorescence. *Biomaterials*. 2012;33(13):3604–13
DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.01.052.

13. Lai C-W, Hsiao Y-H, Peng Y-K, Chou P-T. Facile synthesis of highly emissive carbon dots from pyrolysis of glycerol; gram scale production of carbon dots/mSiO₂ for cell imaging and drug release. *J Mater Chem*. 2012;22(29):14403–9.

14. Chowdhuri AR, Singh T, Ghosh SK, Sahu SK. Carbon dots embedded magnetic nanoparticles@ chitosan@ metal organic framework as a nanoprobe for pH sensitive targeted anticancer drug delivery. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2016;8(26):16573–83

DOI: 10.1039/C2JM32206D.

15. Yang S-T, Cao L, Luo PG, Lu F, Wang X, Wang H, et al. Carbon dots for optical imaging in vivo. *J Am Chem Soc*. 2009;131(32):11308–9

DOI: 10.1021/ja904843x.

16. Luo PG, Sahu S, Yang S-T, Sonkar SK, Wang J, Wang H, et al. Carbon “quantum” dots for optical bioimaging. *J Mater Chem B*. 2013;1(16):2116–27

DOI: 10.1039/C3TB00018D.

17. Zheng XT, Ananthanarayanan A, Luo KQ, Chen P. Glowing graphene quantum dots and carbon dots: properties, syntheses, and biological applications. *small*. 2015;11(14):1620–36

DOI: 10.1002/smll.201402648.

18. Nammahachak N, Aup-Ngoen KK, Asanithi P, Horpratum M, Chuangchote S, Ratanaphan S, et al. Hydrothermal synthesis of carbon quantum dots with size tunability via heterogeneous nucleation. *RSC Adv*. 2022;12(49):31729–33

DOI: 10.1039/D2RA05989D.

19. Cui L, Ren X, Sun M, Liu H, Xia L. Carbon dots: Synthesis, properties and applications. *Nanomaterials*. 2021;11(12):3419

DOI: 10.3390/nano11123419.

20. Wang Y, Anilkumar P, Cao L, Liu J-H, Luo PG, Tackett KN, et al. Carbon dots of different composition and surface functionalization: cytotoxicity issues relevant to fluorescence cell imaging. *Exp Biol Med*. 2011;236(11):1231–8

DOI: 10.1258/ebm.2011.011132.

21. Dias C, Vasimalai N, P. Sárria M, Pinheiro I, Vilas-

Boas V, Peixoto J, et al. Biocompatibility and bioimaging potential of fruit-based carbon dots. *Nanomaterials*. 2019;9(2):199

DOI: 10.3390/nano9020199.

22. Li H, Yan X, Kong D, Jin R, Sun C, Du D, et al. Recent advances in carbon dots for bioimaging applications. *Nanoscale Horizons*. 2020;5(2):218–34

DOI: 10.1039/C9NH00476A.

23. Liu Q, Guo B, Rao Z, Zhang B, Gong JR. Strong two-photon-induced fluorescence from photostable, biocompatible nitrogen-doped graphene quantum dots for cellular and deep-tissue imaging. *Nano Lett*. 2013;13(6):2436–41

DOI: 10.1021/nl400368v.

24. Feng Q, Sun J, Jiang X. Microfluidics-mediated assembly of functional nanoparticles for cancer-related pharmaceutical applications. *Nanoscale*. 2016;8(25):12430–43

DOI: 10.1039/C5NR07964K.

25. Ruan S, Qian J, Shen S, Chen J, Zhu J, Jiang X, et al. Fluorescent carbonaceous nanodots for noninvasive glioma imaging after angioprep-2 decoration. *Bioconjug Chem*. 2014;25(12):2252–9

DOI: 10.1021/bc500474p DOI: 10.1002/tcr.201800172.

26. Wang J, Zhu Y, Wang L. Synthesis and Applications of Red-Emissive Carbon Dots. *Chem Rec*. 2019;19(10):2083–94

DOI: 10.1002/tcr.201800172.

27. Xu X, Cai L, Hu G, Mo L, Zheng Y, Hu C, et al. Red-emissive carbon dots from spinach: Characterization and application in visual detection of time. *J Lumin*. 2020;227:117534

DOI: 10.1016/j.jlumin.2020.117534.

28. Xu D, Lin Q, Chang H. Recent advances and sensing applications of carbon dots. *Small Methods*. 2020;4(4):1900387

DOI: 10.1002/smt.201900387.

29. Dong Y, Pang H, Yang H Bin, Guo C, Shao J, Chi Y, et al. Carbon-based dots co-doped with nitrogen and sulfur for high quantum yield and excitation-independent emission. *Angew Chemie*. 2013;125(30):7954–8

DOI: 10.1002/ange.201301114.

30. Ali Naghizadeh, Amin, Mahmoudi Zarandi, Khoshro, Hassanzadeh. Investigating the effect of



green silver nanoparticles on the germination process of spinach (*Spinacia oleracea*) seeds under saline conditions. Iranian Journal of Biological Sciences. 2020 Nov 21;15(3):1-0

DOR: 20.1001.1.17354226.1401.17.4.1.7

31. Hallaji Z, Bagheri Z, Oroujlo M, Nematy M, Tavassoli Z,

Ranjbar B. An insight into the potentials of carbon dots for in vitro live-cell imaging: Recent progress, challenges, and prospects. *Microchim Acta*. 2022;189(5):190

DOI: 10.1007/s00604-022-05259-9