



ساخت و مشخصه‌یابی نانوذرات کامپوزیتی گرافن اکسید احیا شده-کبالت (rGO-Co) برای استفاده در هایپرترمی

آناهیتا کاکاوند¹، سید خطیب الاسلام صدرنژاد^{2*}

1- دکتری، مهندسی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

2- استاد تمام، مهندسی مواد و متالورژی، دانشگاه صنعتی شریف، تهران

* تهران، صندوق پستی 1365-9466، sadrnezhaad@sharif.edu

چکیده

اطلاعات مقاله:

استفاده از نانوذرات در روش هایپرترمی به دلیل اندازه کوچک آن‌ها به جهت نفوذ در سلول سرطانی و قابلیت کنترل بهتر و پخش یکنواخت دما خیلی مؤثر است. نانوذرات کبالت به سبب مومنت اشباع و خواص مغناطیسی عالی خود گزینه مناسبی در درمان هایپرترمی است. از طرفی به منظور به حداقل رساندن سمیت سلولی نانوذرات کبالت و بهبود عملکرد هایپرترمی ضروری است نانوذرات کبالت به صورت کامپوزیت با مواد دیگر استفاده گردد. بدین منظور در پژوهش حاضر نانوذرات کامپوزیتی گرافن اکسید احیا شده-کبالت (rGO-Co) جهت کاربرد در درمان گرمایی به روش هم‌رسوبی سنتز گردید. مشخصه‌یابی پودرهای سنتز شده توسط آزمون‌های TEM، FESEM، VSM، XRD و DSC-TGA انجام شد و آزمون MTT برای تعیین زیست‌سازگاری و آزمون هایپرترمی برای تعیین نرخ جذب مخصوص مواد استفاده شده است. نتایج آزمون هایپرترمی نشان‌دهنده نرخ جذب مخصوص بالاتر نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co نسبت به گرافن اکسید و نانوذرات کبالت بود. بررسی رفتار بیولوژیکی نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co در غلظت‌های 30-100 µg/ml، حاکی از زیست‌سازگاری خوب نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co در مقایسه با نانوذرات کبالت بود. به طوری که سلول‌های فیبروبلاست در نمونه‌های حاوی غلظت‌های 30 و 50 µg/ml به خوبی رشد و تکثیر کردند.

دریافت: 1401/09/09

پذیرش: 1401/12/03

کلیدواژگان

هایپرترمی،

نانوذرات کبالت،

نانوذرات گرافن اکسید،

نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co،

درمان سرطان.

Fabrication and characterization of reduced graphene oxide-cobalt (rGO-Co) composite nanoparticles for use in hyperthermia

Anahita Kakavand¹, Sayed Khatiboleslam Sadrnezhaad^{2*}

1- Department of Biomedical Engineering, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Department of Materials Science and Engineering, Sharif University of Technology, Tehran, Iran

* 11365-9466, Tehran, Iran, sadrnezhaad@sharif.edu

Keywords

Hyperthermia, cobalt nanoparticles, Graphene oxide nanoparticles, rGO-Co composite nanoparticles, cancer treatment

Abstract

The use of nanoparticles in the hyperthermia method is very effective due to their small size to penetrate the cancer cell and better control and uniform temperature distribution. Cobalt nanoparticles are a good option in hyperthermia due to their saturated momentum and excellent magnetic properties. On the other hand, to minimize the cytotoxicity of cobalt nanoparticles and improve hyperthermia, it is necessary to use cobalt nanoparticles in composite form with other materials. For this purpose, in the present study, reduced cobalt-reduced cobalt (rGO-Co) composite nanoparticles were synthesized for use in heat treatment by the co-precipitation method. The synthesized powders were characterized by FESEM, TEM, XRD, VSM, and DSC-TGA tests, and the MTT test was used to determine biocompatibility, and hyperthermia test was used to determine the specific adsorption rate of the material. The results of the hyperthermia test showed a higher specific adsorption rate of rGO-Co composite nanoparticles than graphene oxide and cobalt nanoparticles. The study of the biological behavior of rGO-Co composite nanoparticles at concentrations of 30-100 µg/ml showed good biocompatibility of rGO-Co composite nanoparticles in comparison with cobalt nanoparticles. Fibroblasts grew and proliferated well at concentrations of 30 and 50 µg/ml.

Please cite this article using:

برای ارجاع به مقاله از عبارت زیر استفاده کنید:

Kakavand, A., Sadrnezhad, S. K., "Fabrication and characterization of reduced graphene oxide-cobalt (rGO-Co) composite nanoparticles for use in hyperthermia," In Persian, Journal of Science and Technology of Composites, Vol. 9, No. 3, pp. 2023-2032, 2023.

https://doi.org/10.22068/JSTC.2023.1975436.1815

1- مقدمه

درگیری بسیاری از مردم جهان به بیماری سرطان باعث شده است که محققان درصدد یافتن روش‌های پیشرفته جدید یا بهبود روش‌های موجود درمان سرطان باشند. پس از سال‌ها مطالعه گسترده، بیش‌تر انواع سرطان هنوز قابل درمان نیستند [1]. روش‌های مختلفی برای درمان سرطان وجود دارد که استفاده از هر کدام از آن‌ها به نوع سرطان و مرحله پیشرفت سرطان بستگی دارد. برخی از بیماران فقط با یک نوع روش درمان می‌شوند ولی اغلب آن‌ها نیاز به ترکیبی از چند روش درمانی دارند. از جمله این تکنیک‌ها می‌توان به روش جراحی¹، شیمی درمانی²، پرتو درمانی³، ایمونوتراپی⁴، هورمون درمانی⁵، درمان با سلول‌های بنیادی⁶، هایپرترمی درمانی⁷ اشاره نمود [2]. هایپرترمی درمانی نوعی درمان پزشکی است که در آن ناحیه مورد نظر بدن در معرض دمای بالاتر از محیط اطراف قرار می‌گیرد تا سلول‌های سرطانی هدف را از بین ببرد یا حداقل آن‌ها را نسبت به سایر روش‌های درمانی مانند پرتوهای گاما و برخی داروهای ضد سرطانی حساس‌تر کند [2]. هایپرترمی با استفاده از نانوذرات مغناطیسی ابتدا در سال 1957 به وسیله‌ی گیلکریست⁸ انجام و پیشنهاد شد [4]. گیلکریست در آزمایشی نشان داد که میدان مغناطیسی باعث گرم شدن نانوذرات مغناطیسی می‌شود. نانوذرات مغناطیسی دارای ممان‌های مغناطیسی هستند که همه در یک جهت منظم شده‌اند، قرارگیری نانوذرات مغناطیسی در یک میدان متغیر منجر به تغییر جهت ممان‌های مغناطیسی نانوذرات و بنابراین تولید انرژی گرمایی می‌شود [5]. همچنین اصطکاک ایجاد شده حاصل از چرخش نانوذرات مغناطیسی درون سیال تحت میدان مغناطیسی متغیر، منجر به ایجاد گرما در آن می‌شود [6]. بنابراین پس از ورود نانوذرات مغناطیسی به بافت سرطانی و قرارگیری بافت حاوی نانوذرات مغناطیسی در میدان مغناطیسی متغیر، افزایش دمای ناشی از تغییر جهت ممان‌های مغناطیسی و چرخش نانوذرات مغناطیسی در درون سلول‌های بافت سرطانی، منجر به مرگ سلول‌های بافت سرطانی می‌شود [1، 7].

در دهه اخیر، نانوذرات مغناطیسی⁹ به دلیل کاربردهای گسترده‌شان در کاتالیز و زیست‌شناسی، توجه دانشمندان را به خود جلب کرده است [8]. ذره ایده‌آلی برای کلیه کاربردهای گرمایش مغناطیسی وجود ندارد. ذرات آهن-اکسید که اغلب با دکستران پوشش داده می‌شوند، بیشترین کاربرد را دارند چرا که از زیست‌سازگاری عالی بدون تقریباً هیچ سمیتی [9-13] و نرخ جذب مخصوص بالایی برخوردارند [14]. کبالت [15] و آلیاژهای آهن-کبالت [16، 17] مقادیر نرخ جذب مخصوص بالای جذابی دارند اما ممکن است خاصیت سمی داشته باشند [18]. شا¹⁰ و همکارانش [19] نیز با سنتز نانوذرات فریت کبالت به دنبال افزایش عملکرد نانوذرات برای استفاده در هایپرترمی بودند.

در میان نانوذرات فلزی مختلف از جمله Fe، Co، Ni، نانوذرات Co به دلیل کاربردهای صنعتی بالقوه آن‌ها به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است [20-23]. مشخص شده است که نانوذرات کبالت به دلیل

ناهمسانگردی بزرگ و شل شدن پروتون بیشتر، جایگزین عالی برای نانوذرات آهن هستند [24]. این ویژگی‌های جالب نانوذرات کبالت آن‌ها را به یک کاندید ایده‌آل برای کاربرد در کاتالیز، تصویربرداری تشدید مغناطیسی¹¹ و دارورسانی تبدیل می‌کند [25]. با توجه به اهمیت روش هایپرترمی در درمان سرطان، بهبود راندمان این روش در از بین بردن سلول‌ها نقش بسزایی در درمان بیماران سرطانی خواهد داشت [26]. برای مثال، نرخ گرمایش نسبتاً پایین هایپرترمی مغناطیسی رایج که معمولاً با Fe₃O₄ وجود دارد، اغلب نیاز به غلظت بالایی از نانوذرات برای تزریق به بدن انسان دارد؛ که نه تنها منجر به سمیت بالقوه می‌شود، بلکه نظارت بر پیشرفت پاسخ تومور را با استفاده از ابزارهای تصویربرداری پزشکی پیچیده می‌کند [27]. همچنین تأخیر در رسیدن به دمای مورد نظر، کنترل دقیق دما را دشوار کرده و باعث بروز برخی از عوارض جانبی ناخواسته مانند گرم شدن بیش از حد بافت‌های طبیعی و/یا توزیع غیریکنواخت دما در نزدیکی تومورها می‌شود [2].

بهبود عملکرد نانوذرات مغناطیسی در درمان هایپرترمی با استفاده از کامپوزیتی نمودن آن‌ها با صفحات گرافن یا گرافن اکسید، به دلیل افزایش سطح نانوذرات مغناطیسی، بهبود عملکرد رفتار گرمایی نانوذرات مغناطیسی را به همراه خواهد داشت [8، 21، 22، 28-30]. بای¹² و همکارانش [31]، نشان دادند که حضور گرافن در کنار نانوذرات اکسید آهن، علاوه بر حفظ رفتار مغناطیسی‌پذیری نانوذرات کامپوزیت شده، رفتار هایپرترمی آن را به میزان قابل توجهی ارتقا داد. کامپوزیتی نمودن نانوذرات مغناطیسی با گرافن به عنوان راهکاری جذاب به منظور بهبود راندمان گرمایی نانوذرات مغناطیسی در درمان هایپرترمی می‌باشد [31، 32].

به سبب اینکه بازدهی هایپرترمی یک ذره مغناطیسی تک‌حوزه به ناهمسانگردی کریستالی بستگی دارد، استفاده از مواد مغناطیسی مانند کبالت فلزی در نانوکامپوزیت گرافن اکسید احیا شده- کبالت با ناهمسانگردی مغناطیسی و ممان مغناطیسی بالا موجب بهبود قابل توجه کارایی مواد خواهد شد. بدین ترتیب هایپرترمی مغناطیسی و تصویربرداری تشدید مغناطیسی بهبود می‌یابد. یکی دیگر از مزایای منحصر به فرد استفاده از کبالت در نانوکامپوزیت گرافن اکسید احیا شده- کبالت (rGO-Co) این است که اجازه کاهش اندازه ذرات را می‌دهد که به نوبه خود مزایای دیگری از جمله افزایش قابلیت نفوذ به سلول‌های سرطانی کوچک‌تر دارد. از طرفی نیمه‌عمر طولانی‌تری در خون خواهد داشت که به دوز کمتری از مواد در بدن بیمار نیاز خواهد بود که این خود موجب کاهش سمیت خواهد شد [33]. بنابراین در این پژوهش، نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co به روش هم‌رسوبی سنتز و پس از مشخصه‌یابی آن، رفتار گرمایی و زیست‌سازگاری آن مورد بررسی قرار گرفت. هم‌چنین سمیت سلولی نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co با روش MTT بررسی شد.

2- فعالیت‌های تجربی

2-1- سنتز گرافن اکسید

گرافن اکسید با استفاده از روش شیمیایی هامر¹³ سنتز شد. لازم به ذکر است که تمامی مواد مصرفی از شرکت Merck تهیه شده است. پیش از شروع سنتز، ابتدا 0.5 گرم پودر گرافیت با خلوص 99.99٪ و اندازه ذرات $\geq 200\mu\text{m}$ در 150 میلی‌لیتر اسیدسولفوریک با خلوص 95٪ اضافه شد و به مدت 2 ساعت به آرامی هم زده شد تا ناخالصی‌های نامطلوب پودر گرافیت با شستشو

¹¹Magnetic Resonance Imaging (MRI)¹²Bai¹³Hummer's method¹Surgery²Chemotherapy³Radiation Therapy⁴Immunotherapy⁵Hormone Therapy⁶Stem Cell Therapies⁷Hyperthermia Therapy⁸Gilchrist⁹Magnetic Nanoparticles (MNPs)¹⁰Sha

روشی تفاضلی⁶ و آزمون وزن سنجی حرارتی⁷ توسط دستگاه Netzsch مدل 200F3 مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co از دمای محیط تا دمای 1000°C با نرخ گرمایش 5°C/min گرم شد. خواص مغناطیسی نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co با استفاده از دستگاه مغناطیس‌سنج⁸ Meghnatis Daghig Kavar اندازه‌گیری و به عنوان تابعی از میدان مغناطیسی اعمالی نشان داده شده است.

4-2- بررسی رفتار هایپرترمی نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co تحت میدان مغناطیسی

پاسخ گرمایی هایپرترمی مغناطیسی نانوذرات کبالت، گرافن اکسید و نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co پراکنده شده در محیط مایع شبیه‌سازی شده بدن⁹ با غلظت 100 µg/mL در بازه زمانی 300 ثانیه (5 دقیقه) تحت میدان مغناطیسی توسط دستگاه گرمایش القایی فرکانس بالا¹⁰ مدل SPG-10-I مورد بررسی قرار گرفت. میدان مغناطیسی تحت فرکانس 150 kHz شدت میدان 25 kA/m و توان 1500 w اعمال شد. دمای اتاق به عنوان دمای آغازین برای نمونه‌ها تعریف شده است. یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاوی نانوذرات در یک لوله شیشه‌ای درون پیچه القایی مغناطیسی که با آب خنک می‌شود قرار داده شد. چالش درمان هایپرترمی، توسعه یک واسطه گرمایشی با توان تلفات ویژه¹¹ بالا است که اثر دوز فروسیال¹² در داخل بدن را کاهش می‌دهد. بنابراین، SLP را می‌توان از معادله 1 محاسبه کرد:

$$SLP = \left(\frac{CV_s}{m} \right) \times \left(\frac{dT}{dt} \right)_i \quad (1)$$

که در آن C ظرفیت حرارتی حجمی ویژه یعنی 4.18 J/g°C، V_s حجم نمونه برحسب m، cm³، جرم ماده مغناطیسی برحسب g و $\left(\frac{dT}{dt} \right)_i$ نرخ اولیه افزایش دما است که چند ثانیه پس از شروع اثر گرمایش تعیین می‌شود. همچنین به منظور بررسی اثر غلظت محلول‌های حاوی غلظت‌های مختلف نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co در بازه زمانی 1200 ثانیه تحت میدان مغناطیسی قرار گرفت.

5-2- بررسی رفتار بیولوژیکی

به منظور بررسی رفتار بیولوژیکی نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co در مقایسه با نانوذرات کبالت و گرافن اکسید از سلول‌های فیبروبلاست انسانی استفاده شد. ابتدا نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co در اتانول استریلیزه شدند. نانوذرات در داخل ظرف 24 خانه‌ای کشت سلولی¹³ قرار گرفتند. در هر خانه حاوی نانوذرات، مقدار 1 میلی‌لیتر محیط کشت شامل DMEM¹⁴ به همراه 10٪ حجمی سرم جنین گاوی¹⁵ و 1٪ حجمی پنی‌سیلین¹⁶ / استرپتومایسین¹⁷ (DMEM+10% v FBS+ 1% P/S) اضافه شد. سپس به میزان 2.5×10⁵ سلول به ازای هر خانه بر سطح نانوذرات کاشته شد در نهایت در انکوباتور تحت اتمسفر 5٪ کربن‌دی‌اکسید (CO₂) و 95٪ رطوبت در دمای

حذف شود. برای سنتز گرافن اکسید، ابتدا 0.5 گرم پودر گرافیت و 0.5 گرم سدیم‌نیترات با خلوص 99.99٪ درون 23 میلی‌لیتر اسیدسولفوریک به مدت 15 دقیقه در دمای 0°C به آرامی هم‌زده شد. سپس 3 گرم پتاسیم‌پرمنگنات با خلوص 99٪ اضافه شد و به مدت 4 ساعت در دمای 35°C به آرامی هم‌زده شد. سپس به محلول فوق 40 میلی‌لیتر آب دی‌یونیزه اضافه شد و به مدت 30 دقیقه مخلوط در دمای 90°C تحت چرخش آرام قرار داده شد. به منظور جلوگیری از ورود آلودگی‌های ناشی از یون‌های پرمنگنات اضافی به ماده، به محلول فوق 100 میلی‌لیتر آب دی‌یونیزه و 3 میلی‌لیتر هیدروژن‌پراکسید با خلوص 30٪ اضافه شد. به منظور تبدیل محلول زرد رنگ گرافیت اکسید به گرافن اکسید به مدت 40 دقیقه آلتراسونیک شد. در نهایت ماده قرمز قهوه‌ای گرافن اکسید به دست آمد. محلول کلونیدی گرافن اکسید به مدت 2 روز با کاغذ صافی فیلتر شد. رسوبات باقی‌مانده درون کاغذ صافی با ترکیب 100 میلی‌لیتر آب دی‌یونیزه و 10 میلی‌لیتر اسید کلریدریک با خلوص 37٪ شستشو داده شدند.

2-2- سنتز نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co

به منظور سنتز نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co به روش هم‌رسوبی، 0.095 گرم کبالت کلرید 6آبه با خلوص <98٪ و 0.035 گرم گرافن اکسید سنتز شده در آب دی‌یونیزه حل شد. pH محلول با استفاده از محلول یک مولار سدیم-هیدروکسید با خلوص <97٪ روی 8 تنظیم شد و مخلوط به طور پیوسته به مدت 30 دقیقه هم زده شد. 0.038 گرم محلول سدیم بورهیدرید با خلوص <98٪ به محلول فوق افزوده شد. به منظور تکمیل واکنش به مدت 3 ساعت محلول در دمای اتاق هم زده شد. در نهایت رسوبات توسط کاغذ صافی فیلتر و سه بار با آب دی‌یونیزه شسته شدند. سپس در آن در دمای 80°C خشک شدند. پس از خشک شدن، به مدت یک ساعت در دمای 400°C در اتمسفر هیدروژنی کلسینه شدند. به منظور مقایسه نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co با نانوذرات کبالت، نانوذرات کبالت از شرکت Merck خریداری شد.

3-2- بررسی‌های ساختاری نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co

جهت شناسایی ترکیبات فازی نانوذرات کبالت، گرافن اکسید و نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co آزمون پراش اشعه ایکس¹ Bruker مدل D8 Advance انجام شد. الگوهای پراش با استفاده از لامپ K_{αCu} (λ = 1.54 Å) در محدوده 2θ < 80°، به دست آمدند. طیف‌های به دست آمده توسط نرم‌افزار X'Pert Highscore² ورژن 3.0.5 بررسی شدند. به منظور بررسی مورفولوژی نانوذرات کبالت، نانوذرات گرافن اکسید سنتز شده و نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co، از میکروسکوپ الکترونی گسیل میدانی³ TESCAN مدل MIRA III استفاده شد و نقشه کیفی توزیع عناصر تهیه شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری⁴ و الگوی پراش الکترون ناحیه‌ی انتخابی⁵ با استفاده از یک میکروسکوپ الکترونی عبوری Philips مدل CM20 FEG به دست آمدند.

به منظور بررسی وضعیت شیمیایی اتم‌های کربن و کبالت در نانوذرات گرافن اکسید و نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co طیف‌سنج فوتوالکترون پرتوی ایکس⁵ مورد استفاده قرار گرفت. تحلیل داده‌های حاصل از آزمون XPS با نرم‌افزار CASA نسخه 2.3.19 انجام گردید. رفتار حرارتی و تغییرات وزن نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co به ترتیب با استفاده از آزمون گرماسنجی

¹X-Ray Diffraction (XRD)

²Field Emission Scanning Electron Microscope (FESEM)

³Transmission Electron Microscope (TEM)

⁴Selected Area Electron Diffraction (SAED)

⁵X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS)

⁶Differential Scanning Calorimetry (DSC)

⁷Thermal Gravimetric Analysis (TGA)

⁸Vibrating Sample Magnetometer (VSM)

⁹Simulated Body Fluid (SBF)

¹⁰High Frequency Induction Heater (HFH)

¹¹Specific Loss Power (SLP)

¹²Ferrofluid

¹³24-well plates

¹⁴Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM)

¹⁵Fetal Bovine Derum (FBS)

¹⁶Penicillin

¹⁷Streptomycin

2-3- بررسی ریزساختار و مورفولوژی

تصاویر TEM نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co در شکل 2 نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، نانوذرات کروی کبالت روی صفحات نازک گرافن به طور همگن و یکنواخت مستقر شدند که نشان‌دهنده عملکرد مناسب روش سنتز می‌باشد. به دلیل ترکیب کامل و نیروی جاذبه قوی بین نانوذرات کبالت و صفحات گرافن تقریباً تمام نانوذرات کبالت قابل مشاهده حتی پس از فرآیند آماده‌سازی، به سطح صفحات گرافن متصل باقی ماندند. همچنین اندازه متوسط نانوذرات کبالت در حدود 15 نانومتر می‌باشد. الگوی SAED مربوطه، که در قسمت داخلی شکل 2 (ج) نشان داده شده است، نقاط و حلقه‌های ساختار هگزاگونال نانوذرات کبالت را نشان می‌دهد.

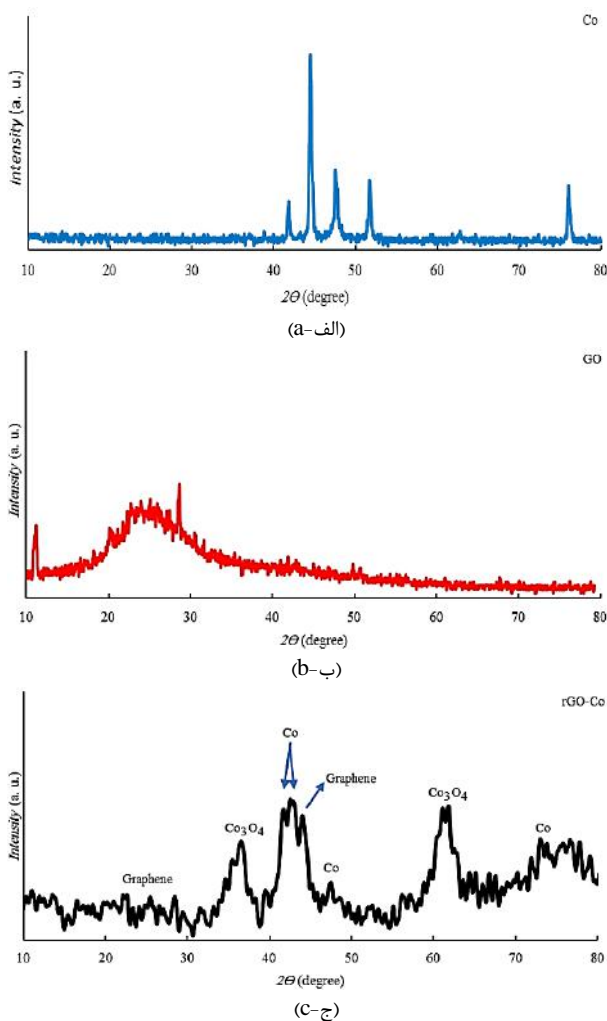


Fig. 1 XRD pattern: a) cobalt nanoparticles, b) graphene oxide and c) rGO-Co composite nanoparticles

شکل 1 الگوی XRD: الف) نانوذرات کبالت، ب) گرافن اکسید و ج) نانوذرات کامپوزیت rGO-Co

در شکل 3 تصاویر FESEM گرافن اکسید (شکل 3 الف)) و نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co (شکل 3 ب)) مشاهده می‌شود. صفحات گرافن اکسید با مورفولوژی ورقه‌ای شکل هستند که چین و چروک‌های سطحی ورقه‌ها دیده می‌شود. نانوذرات کبالت به خوبی روی صفحات گرافن قرار گرفته‌اند، به گونه‌ای که پوششی از نانوذرات کبالت روی صفحات گرافن تشکیل شده است. این نتایج مشابه نتایج تحقیقات مرجع [21] است. نانوذرات کبالت با اندازه

37°C نگهداری شد. در طول مدت زمان آزمایش محیط کشت به طور متناوب هر روز تغییر داده شد. جهت مشاهده مورفولوژی، رشد و تکثیر سلول‌ها در محیط کشت، در مدت زمان 48 ساعت، از میکروسکوپ نوری معکوس Evident مدل IX83 استفاده شد.

6-2- بررسی سمیت سلولی

آزمون MMT¹ به منظور ارزیابی رفتار سمیت نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co بر روی سلول‌ها در محیط کشت در روزهای اول و دوم انجام شد. ابتدا محلول MTT با غلظت 5 mg/ml با انحلال در 1 میلی‌لیتر فسفات‌بافر سالین² تهیه شد. 100 میکرولیتر از MTT به هر یک از خانه‌ها افزوده شد و به مدت 4 ساعت در انکوباتور در 37°C تحت CO₂ 5% قرار گرفت. سلول‌های زنده چسبیده در اثر واکنش با ماده زرد رنگ MTT بلورهای ارغوانی رنگ فورمازان³ را تشکیل می‌دهند. به منظور حل کردن بلورهای فورمازان، پس از خارج کردن ماده MTT حاوی محیط کشت، محلول دی‌متیل‌سولفوکساید⁴ به هر خانه اضافه شد. به منظور حل شدن بهتر بلورهای فورمازون، پلیت کشت به مدت 10 دقیقه بر روی دستگاه شیکر قرار گرفت. در نهایت مقدار غلظت ماده حل شده در DMSO با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر⁵ Biotek مدل ELX-800 در طول موج 570 نانومتر محاسبه شد. لازم به ذکر است که هر نمونه دارای 4 بار تکرار می‌باشد و خانه‌ی عمل‌آوری نشده به عنوان نمونه‌ی کنترل مورد استفاده قرار گرفت.

3- نتایج و بحث

1-1- آنالیز فازی

شکل 1 نتایج حاصل از آنالیز XRD نانوذرات کبالت، پودر گرافن اکسید و نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co سنتز شده را نشان می‌دهد. شکل 1 الف) الگوی XRD نانوذرات کبالت را نشان می‌دهد. پیک‌های مشخص شده در زوایای (2θ) 41.8، 44.5، 47.5 و 76 به ترتیب به صفحات (100)، (002)، (101) و (110) فاز HCP کبالت مربوط هستند در حالی که پیک‌های 44.5 و 51.63 به صفحات (111) و (200) فاز FCC کبالت مربوط است [34]. این نشان می‌دهد که نمونه نانوذرات کبالت شامل هر دو فاز کریستالی HCP و FCC کبالت است. شکل 1 ب) الگوی XRD گرافن اکسید سنتز شده را نشان می‌دهد. در این شکل دو پیک در زاویه‌های (2θ) 11.9 و 29.4 درجه نمایان شده است که تطابق خوبی با پیک‌های مشخصه گرافن اکسید دارد. الگوی پراش اشعه ایکس نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co در شکل 1 ج) قابل مشاهده است. پیک‌هایی ظاهر شده در زوایای (2θ) 23.4 و 44.4 مربوط به گرافن هستند در حالی که پیک‌های ظاهر شده در زوایای (2θ) 41.6، 44.4، 47.3 و 76 به ساختار متراکم هگزاگونالی کبالت اختصاص دارند (JCPDS NO. 05-0727). پیک‌های 36 و 62 درجه به Co₃O₄ و به ترتیب به صفحات (110) و (111) نسبت داده می‌شوند (JCPDS Card No. 01-072-1474). ناپدید شدن پیک‌های گرافن اکسید در نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co نشان‌دهنده این است که گرافن اکسید به طور مؤثر به rGO کاهش یافته است [36]. نانوذرات کبالت که بین لایه‌های rGO وجود دارد، مانع خودبازسازی rGO می‌شود. بنابراین شدت پراش rGO کمتر می‌شود و در نتیجه پیک‌های مشخصه پراش rGO در الگوی XRD نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co مشاهده نمی‌شود [21].

⁶3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide

⁷Phosphate-Buffered Saline (PBS)

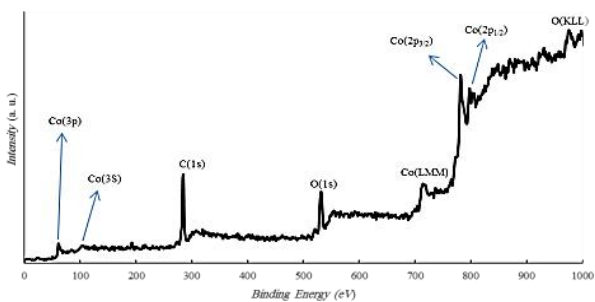
⁸Formazan

⁹Dimethyl Sulfoxide (DMSO)

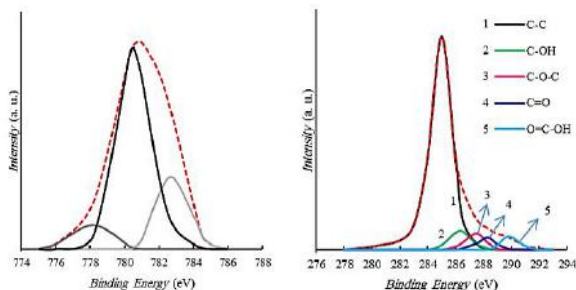
⁵Microplate reader

3-3- بررسی شیمیایی

به منظور ارزیابی وضعیت شیمیایی سطح صفحات گرافن در نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co از روش XPS استفاده گردید. طیف XPS نانوکامپوزیت در شکل 4 (الف) نشان داده شده است. به دلیل احیای گرافن اکسید پیک O(1s) نسبت به پیک C(1s) شدت کمتری دارد [22]. نتایج طیف XPS با نتایج آزمون XRD (حذف پیک اکسیژن مربوط به نانوذرات گرافن اکسید بعد از سنتز نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co) مطابقت دارد. البته گرافن احیا شده مانند گرافن طبیعی نبوده و مقداری اکسیژن در نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co وجود دارد که بخشی از آن می‌تواند به آلودگی‌های سطحی نسبت داده شود [22]. حضور نانوذرات کبالت در ساختار نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co با پیک‌های مشخصه‌ی تراز هسته‌ی کبالت (2P_{3/2} و 3P_{3/2}) در طیف XPS تأیید شد. پیک‌های تراز هسته‌ی Co(2p) به دو جزء پیک 2p_{1/2} (796 eV) و 2p_{3/2} (783 eV) تقسیم شده است [20]. تراز هسته‌ی Co(2p_{3/2}) به کبالت فلزی Co²⁺ مربوط می‌شود. شکل 4 (ب و ج) تجزیه پیک مربوط به تراز Co(2p) و C(1s) نشان داده شده است. در شکل 4 (ب) نسبت مساحت پیک مربوط به گروه‌های عاملی اکسیژن دار (C-O-C, C-OH, C=O) و C=O به پیک C-C محاسبه شدند. نسبت O/C از 0.9 برای نمونه گرافن اکسید به 0.18 برای نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co کاهش می‌یابد. نتایج به دست آمده، اکسیژن‌زدایی ورقه‌های گرافن اکسید را نشان می‌دهد. این امر احیای مناسب گرافن اکسید را نشان می‌دهد که با نتایج XRD موافقت دارد. شکل 4 (ج) پیک‌های ساده شده ترازهای هسته‌ی Co(2p_{3/2}) را نشان می‌دهد. پیک‌های ساده شده Co(2p_{3/2}) در 781.4 و 778 eV و پیوند CoO به انرژی پیوند CoO و یا پیوند (Co-O) فلز/اکربوکسیلات مربوط است. پیک 778 eV به کبالت فلزی نسبت داده می‌شود. داده‌های XPS نشان می‌دهند که کبالت اغلب در حالت Co²⁺ قرار دارد.



(الف-ا)



(ج-ب)

(ب-ب)

Fig. 4 XPS analysis spectrum: a) rGO-Co composite nanoparticles, b) C(1s) decomposition peak and c) Co(2p) decomposition peak

شکل 4 طیف آنالیز XPS: (الف) نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co، (ب) تجزیه پیک C(1s) و (ج) تجزیه پیک Co(2p)

ذرات کمتر از 30-20 نانومتر بر روی صفحات گرافن اکسید احیا شده قرار گرفته‌اند. همچنین نقشه توزیع عناصر در شکل 3 (ج) دیده می‌شود که نشان‌دهنده توزیع یکنواخت عناصر کبالت و کربن در نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co است.

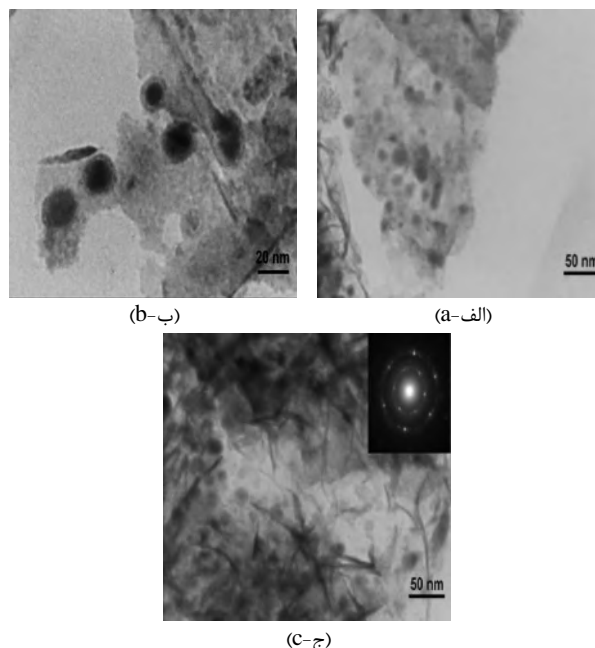
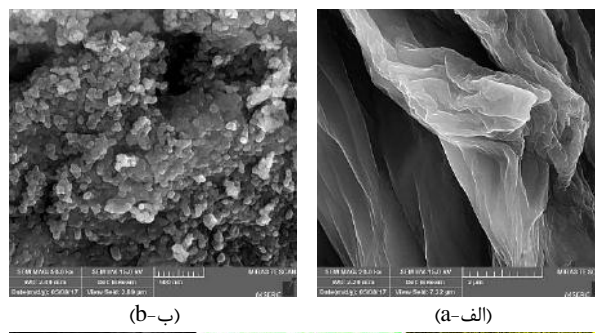


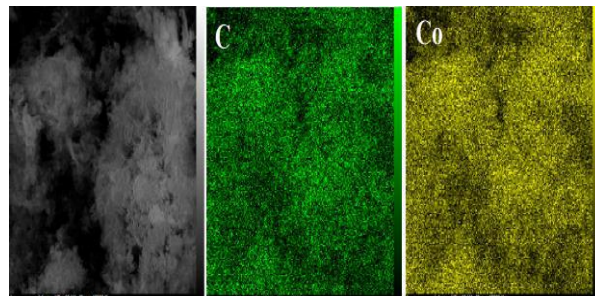
Fig. 2 TEM images: a) Cobalt nanoparticles attached to graphene oxide sheets, b) Cobalt spherical nanoparticles and c) SAED pattern rGO-Co composite nanoparticles

شکل 2 تصاویر TEM: (الف) نانوذرات کبالت متصل به ورقه‌های گرافن اکسید، (ب) نانوذرات کروی کبالت و (ج) الگوی SAED نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co



(ب-ب)

(الف-ا)



(ج-ب)

Fig. 3 FESEM images: a) graphene oxide, b) rGO-Co composite nanoparticles and c) rGO-Co composite nanoparticle element distribution map

شکل 3 تصاویر FESEM: (الف) گرافن اکسید، (ب) نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co و (ج) نقشه توزیع عناصر نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co

4-4- آنالیز TGA-DSC

پذیری خوبی برخوردار است. از طرف دیگر، مقادیر بدست آمده برای مغناطش اشباع نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co، نانوذرات کبالت و گرافن-اکسید به ترتیب 56.52، 37.18 و 0.031 emu/g می‌باشد. بالا بودن مقادیر اشباع مغناطیسی نانوذرات کبالت به عنوان امتیازی جهت کاربردپذیری هرچه بهتر آن در هایپرترمی مغناطیسی است. اشباع مغناطیسی بالای نانوذرات کبالت، بالا رفتن حساسیت و پاسخ‌دهی نانوذرات را به میدان مغناطیسی خارجی به همراه داشته و موجب می‌شود که بازدهی حرارتی نانوذرات با قرارگیری در میدان مغناطیسی متناوب، جهت کاربرد در هایپرترمی مغناطیسی، افزایش یابد. میزان مغناطش اشباع برای نانوذرات کامپوزیتی (حاوی 80٪ کبالت) از نانوذرات کبالت کمتر می‌باشد که علت آن را می‌توان کاهش مقدار کبالت در نانوکامپوزیت و از طرف دیگر اکسیداسیون سطحی ناخواسته ذرات کبالت دانست که احتمالاً به صورت پوسته نازکی بر روی سطح کبالت تشکیل شده است. نتایج پژوهش آقایی دوست² و همکارانش [40]، هم نشان داد که مقدار مغناطش اشباع نانوکامپوزیت‌های گرافن-کبالت سنتز شده (119 emu/g) از نمونه کبالت خالص (168 emu/g) به دلیل وجود صفحات غیرمغناطیسی گرافن کمتر است. وجود فازهای اکسید کبالت در نتایج XRD نیز پیش‌تر مشخص شده بود. خاصیت بازدارندگی مغناطیسی نیز برای نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co، نانوذرات کبالت و گرافن-اکسید به ترتیب 800.4، 22.37 و 72.5 Oe است. چنانچه مشهود است نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co در مقایسه با نانوذرات کبالت خاصیت بازدارندگی بیشتری از خود نشان می‌دهد. علت این امر محدودیت چرخش نانوذرات کبالت تحت میدان مغناطیسی به دلیل به دام افتادن در صفحات گرافن است. در نتیجه افزایش انرژی مورد نیاز دوقطبی‌های مغناطیسی، موجب افزایش شدت میدان مغناطیسی می‌شود. رفتار مغناطیسی نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co و نانوذرات کبالت مشابه رفتار مشاهده شده در نانوذرات CoFe₂O₄ سنتز شده توسط شا و همکارانش [19] می‌باشد.

نمودارهای TGA-DSC نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co در محدوده دمای 25-1000°C تحت اتمسفر گاز خنثی در شکل 5 نشان داده شده است. نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co در دمای 112°C به دلیل حذف آب [21] و در دمای 598°C به دلیل سوختن گرافن احیا شده [37] و تخریب گروه‌های عاملی اکسیژن گرافن اکسید [38] دچار کاهش وزن شد. هم‌چنین در دمای 813°C اندکی افزایش وزن رخ داده است که می‌تواند به دلیل اکسیداسیون نانوذرات کبالت باشد. با توجه به نتایج آنالیز توزین حرارتی، کل وزن از دست رفته نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co در حدود 19 wt.% می‌باشد که به دلیل سوختن گرافن اکسید احیا شده می‌باشد. به همین ترتیب می‌توان گفت که میزان درصد وزنی کبالت موجود نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co در حدود 81 wt.% است.

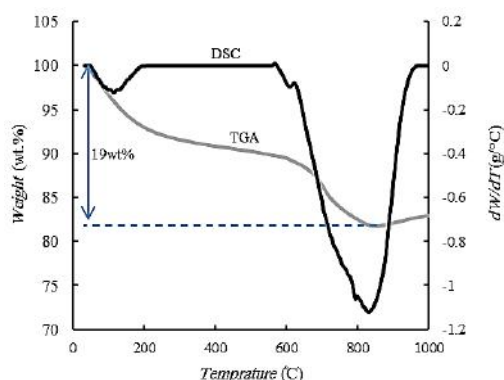


Fig. 5 Thermal gravimetric results of rGO-Co composite nanoparticles

شکل 5 نتایج وزن‌سنجی حرارتی نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co

5-3- بررسی رفتار مغناطیسی

رفتار مغناطیسی نانوذرات کبالت، گرافن اکسید و نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co با استفاده از اندازه‌گیری مغناطش به عنوان تابعی از میدان مغناطیسی اعمالی بررسی شد. بدین منظور پاسخ مغناطیسی نمونه‌ها توسط مغناطیس-سنج نمونه ارتعاشی در شکل 6 نشان داده شده است. با توجه به نمودار هیستریزس ترسیم شده برای این مواد، نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co و نانوذرات کبالت رفتار فرومغناطیس خوبی از خود نشان داده‌اند. اما گرافن-اکسید رفتار متفاوتی دارد. رفتار ضعیف سوپر پارامغناطیس گرافن اکسید با آنچه در پژوهش صورت گرفته توسط سرکار¹ و همکارانش [39] مطابقت بسیار خوبی دارد که ناشی از وجود گروه‌های عاملی و ساختار لایه‌ای کربن است. در گرافن اکسید اتصال اتم‌های اکسیژن به شبکه کربن موجب بروز ممان‌های مغناطیسی می‌شود. بخشی از خواص مغناطیسی گرافن اکسید مربوط به گروه عاملی OH⁻ است. در فرآیند احیای گرافن اکسید، چنین گروه‌های عاملی به تدریج حذف می‌شوند و ممان مغناطیسی کمتری از خود نشان می‌دهند. لذا به همین دلیل وجود گرافن احیا شده در نانوذرات کامپوزیتی سنتز شده موجب کاهش ممان مغناطیسی در مقایسه با کبالت می‌شود. پسماند مغناطیسی برای نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co، نانوذرات کبالت و گرافن اکسید به ترتیب 14.91، 159.84 و 0.0124 emu/g است. بدین ترتیب با قرارگیری نانوذرات کبالت بر روی صفحات گرافن، اندکی از خاصیت پسماند مغناطیسی آن کاسته می‌شود ولی همچنان از مغناطیس

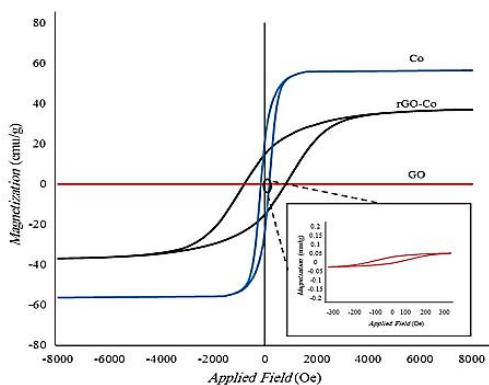


Fig. 6 Vibrating sample magnetometer (VSM) diagram: cobalt, graphene oxide and rGO-Co composite nanoparticles

شکل 6 نمودار مغناطیس‌سنج نمونه ارتعاشی (VSM): کبالت، گرافن اکسید و نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co

6-3- بررسی رفتار گرمایی تحت میدان مغناطیسی

نمودار رفتار گرمایی محلول حاوی نانوذرات کبالت، گرافن اکسید و نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co با غلظت 100 mg/ml در شکل 7 (الف) نشان داده شده است. با تغییر جهت میدان مغناطیس خارجی، فرسویال‌ها با انتقال انرژی گرمایی به محیط اطراف به آسایش می‌رسند. دو مکانیسم اصلی

²Aghaie Doost

¹Sarkar

رفتار گرمایی نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co با غلظت‌های 30، 50، 70 و 100 $\mu\text{g/mL}$ به عنوان تابعی از زمان در شکل 7 (ب) نشان داده شده است. چنانچه مشاهده می‌شود، نرخ انتقال گرما با افزایش غلظت محلول افزایش یافته است و به سمت مقادیر بالاتر دمایی تغییر کرده است. لازم به ذکر است، در غلظت‌ها به دلیل نزدیک شدن نانوذرات کبالت به یکدیگر بر هم کنش دوقطبی-دوقطبی بین نانوذرات مغناطیسی افزایش می‌یابد. لذا با افزایش غلظت محلول حاوی نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co، گرمایش در نتیجه حضور میدان مغناطیسی نیز افزایش می‌یابد [22].

جدول 1 میزان گرمایش، نرخ افزایش دمای اولیه و SLP محلول حاوی نانوذرات کبالت، گرافن اکسید و نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co

Table 1 Heating rate, initial temperature rising rate and solution SLP containing cobalt nanoparticles, graphene oxide and rGO-Co composite nanoparticles

پارامتر	گرافن اکسید	کبالت	نانوکامپوزیت گرافن اکسید-کبالت
ΔT ($^{\circ}\text{C}$)	2.5	11	20.2
dT/dt ($^{\circ}\text{C}/\text{min}$)	0.5	2.5	5.3
SLP (W/g)	2.09	10.46	22.18

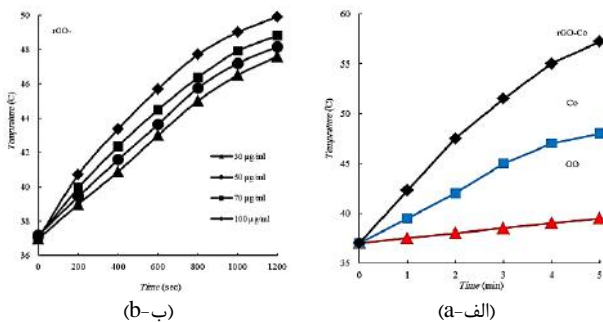


Fig. 7 a) Thermal behavior of cobalt, graphene oxide and rGO-Co composite nanoparticles with a concentration of 100 $\mu\text{g/mL}$ under a magnetic field of 25 kA/m, b) Thermal behavior of rGO-Co composite nanoparticles at concentrations of 30, 50, 70 and 100 $\mu\text{g/mL}$ under magnetic field 25 kA/m

شکل 7 الف) رفتار حرارتی نانوذرات کبالت، گرافن اکسید و نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co با غلظت 100 $\mu\text{g/mL}$ تحت میدان مغناطیسی 25 kA/m، ب) رفتار حرارتی نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co در غلظت‌های 30، 50، 70 و 100 $\mu\text{g/mL}$ تحت میدان مغناطیسی 25 kA/m

7-3- زیست‌سازگاری در محیط برون تنی²

به دلیل اینکه که رفتار زیست‌سازگاری نانوذرات در بازه زمانی که در محیط بدن وارد می‌شوند از اهمیت بالایی برخوردار است، نیاز است قبل از تزریق نانوذرات به محیط بدن، طی ارزیابی برون تنی، رفتار زیست‌سازگاری آن‌ها مورد بررسی قرار گیرد. شکل 8 تصاویر میکروسکوپ نوری از تکثیر سلولی در محیط کشت حاوی غلظت‌های مختلف نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co و نانوذرات کبالت نشان داده شده است. همچنین نتایج آزمون MTT پس از 48 ساعت در شکل 9 نشان داده شده است. رشد و تکثیر سلول‌های فیبروبلاست در محیط‌های حاوی نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co با غلظت‌های 30، 50 و 70 $\mu\text{g/mL}$ در مقایسه با نمونه کنترل افزایش داشته است که نشان‌دهنده عدم سمیت سلولی در این محیط‌ها است. اما با افزایش غلظت نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co به 100 $\mu\text{g/mL}$ و همچنین در محیط کشت

مستول آسایش، آسایش براونی¹ و آسایش نیل² است [22، 41-43]. آسایش نیل ناشی از شکستن سد انرژی ناهمسانگرد به دلیل چرخش ممان‌های مغناطیسی در داخل ذرات رخ می‌دهد. آسایش براونی به دلیل چرخش فیزیکی (مکانیکی) ذرات در سوسپانسیون و جابه‌جایی دیواره‌های حوزه‌های مغناطیسی است [22، 41-43]. با توجه به اتلاف حرارتی ناچیز گرافن اکسید که در شکل 6 نشان داده شد، آزادسازی انرژی حرارتی این ذرات صرفاً در نتیجه رسیدن به آسایش از طریق مکانیسم نیل می‌باشد. بنابراین افزایش دمای نمونه گرافن اکسید به طور قابل توجه نخواهد بود و پس از مدت زمان 5 دقیقه دمای محلول حاوی ذرات گرافن اکسید به 38 $^{\circ}\text{C}$ رسید.

نرخ انتقال گرما نانوذرات کبالت در مقایسه با محلول حاوی گرافن اکسید بسیار بیشتر است. به طوری که، بعد از 5 دقیقه قرارگیری محلول حاوی نانوذرات کبالت تحت میدان مغناطیسی، دمای آن از 37 $^{\circ}\text{C}$ به حدود 46 $^{\circ}\text{C}$ رسید. نانوذرات کبالت به دلیل دارا بودن ماهیت فرومغناطیسی، در نتیجه‌ی اتلاف هیستریزس، گرما تولید می‌کنند. از طرفی نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co نیز ماهیت فرومغناطیسی دارد. ولی میزان اتلاف هیستریزس (مساحت داخل حلقه هیستریزس در شکل 6) آن بیشتر از نانوذرات کبالت بوده و به همین دلیل مقدار حرارت بیشتری تولید می‌کند. حضور گرافن اکسید احیا شده در کنار نانوذرات کبالت، منجر به بهبود راندمان حرارتی شده است چراکه میزان فصل مشترک ذره با محیط سیال، برای یک ذره کامپوزیتی rGO-Co در مقایسه با ذره منفرد کبالت، به میزان قابل توجهی بیشتر است. بنابراین طی اعمال میدان مغناطیسی متناوب و متعاقباً چرخیدن ذره درون سیال، میزان گرمای حاصل از اصطکاک سطح نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co با محیط سیال، بسیار بیشتر از نانوذرات کبالت خواهد بود.

در جدول 1 میزان گرمایش، نرخ افزایش دمای اولیه و نرخ جذب مخصوص (SLP) سه محلول حاوی نانوذرات کبالت، گرافن اکسید و نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co با غلظت 100 mg/mL ذکر شده است. نرخ جذب مخصوص یا میزان تلفات توان به ترتیب از بیشترین به کمترین مقدار به نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co (22.18 W/g)، نانوذرات کبالت (10.46 W/g) و گرافن اکسید (2.09 W/g) تعلق دارد. عملکرد ماده در روش هایپرترمی با پارامتر SLP مشخص می‌گردد. دمای محلول‌های حاوی 100 mg/mL نانوذرات کبالت، گرافن اکسید و نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co تحت میدان مغناطیسی و در مدت زمان 5 دقیقه به ترتیب 2.5، 11 و 20.2 $^{\circ}\text{C}$ افزایش یافت که نشان از عملکرد بهتر نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co نسبت به گرافن اکسید و نانوذرات کبالت است. نتایج بدست آمده با نتایج شا و همکارانش [19] متفاوت است به طوری که دمای محلول حاوی 250 mg/mL از نانوذرات فریت-کبالت با اندازه ذرات متوسط 25 و 60 نانومتر تحت میدان مغناطیسی 8 kA/m و فرکانس 135 kHz در مدت زمان 1 دقیقه به ترتیب به میزان 29.9 و 25 $^{\circ}\text{C}$ افزایش یافته است. اختلاف میزان افزایش دما به تفاوت خواص مغناطیسی، تفاوت اندازه ذرات، غلظت محلول کبالت و فریت-کبالت، شدت میدان مغناطیسی و مدت زمان اعمال میدان بستگی دارد. مقدار افزایش دمای بالاتر فریت-کبالت نسبت به نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co می‌تواند از غلظت بالاتر محلول ناشی گردد. با این حال اندازه کوچک‌تر نانوذرات کبالت در نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co در پژوهش حاضر می‌تواند به نفوذ در تومورهای سرطانی کمک بهتری کند. از طرفی نیز دارو با غلظت کمتری نیز برای درمان نیاز خواهد بود.

¹Brownian Relaxation

²Néel Relaxation

³In vitro

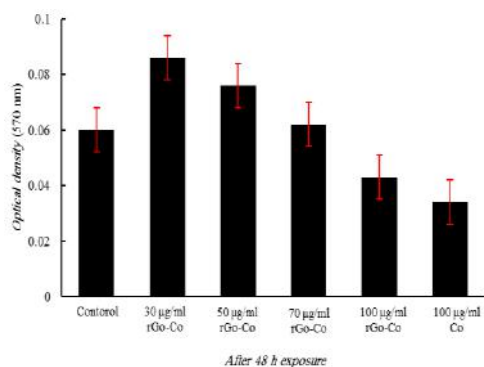


Fig. 9 Optical density after 48 hours at 570 nm

شکل 9 چگالی نوری پس از 48 ساعت در طول موج 570 نانومتر

4- نتیجه‌گیری

در کار حاضر پودر نانوذرات کامپوزیتی گرافن اکسید احیا شده- کبالت (rGO-Co) جهت ارزیابی ساختاری، مغناطیسی و بررسی کاربرد آن در هایپرترمی مغناطیسی سنتز گردید. نتایج حاصل از ارزیابی میکروسکوپ الکترونی عبوری بیانگر توزیع مناسب نانوذرات کبالت بر روی صفحات گرافن اکسید احیا شده می‌باشد. مغناطیس‌پذیری خوب نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co با اشباع مغناطیسی 37.18 emu/gr، بهبود عملکرد حرارتی نانوذرات کامپوزیتی را در محیط مایع شبیه‌سازی بدن در حضور میدان مغناطیسی متناوب نشان داد. ارزیابی رفتار حرارتی نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co با غلظت 100 µg/mL در محیط مایع شبیه‌سازی بدن نشان داد که در بازه زمانی 5 دقیقه تحت میدان 25 kA/m، دمای محیط مایع حاوی نانوذرات به بیش از 20.2°C افزایش یافت. مقدار SLP نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co با غلظت 100 µg/mL، 22.18 W/g بود. با افزایش غلظت نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co از 30 تا 100 µg/mL مقدار دما افزایش ولی مقدار SLP کاهش یافت. در این بین ارزیابی بیولوژیکی نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co نشان داد که نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co در محیط کشت زیست‌سازگاری مناسبی در مقایسه با نانوذرات کبالت در محیط کشت از خود نشان می‌دهد. همچنین بررسی اثر غلظت نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co بر رفتار زیست‌سازگاری آن‌ها نشان‌دهنده رشد و تکثیر سلول‌ها در بازه غلظت 30-70 µg/mL بود. بنابراین با کمترین غلظت ممکن (30 µg/mL) بهترین عملکرد (افزایش دما در مدت زمان کم) بدون سمیت حاصل شد.

5- مراجع

- [1] Giustini, A. J., Petryk, A. A., Cassim, S. M., Tate, J. A., Baker, I. and Hoopes, P. J., "Magnetic Nanoparticle Hyperthermia in Cancer Treatment," *Nano LIFE*, Vol. 1, No. 1n02, pp. 17-32, 2010.
- [2] Lee, J.-H., Kim, B., Kim, Y. and Kim, S.-K., "Ultra-High Rate of Temperature Increment from Superparamagnetic Nanoparticles for Highly Efficient Hyperthermia," *Scientific Reports*, Vol. 11, No. 1, p. 4969, 2021.
- [3] Fatima, H., Charinpanitkul, T. and Kim, K. S., "Fundamentals to Apply Magnetic Nanoparticles for Hyperthermia Therapy," *Nanomaterials (Basel)*, Vol. 11, No. 5, 2021.
- [4] Gilchrist, R. K., Medal, R., Shorey, W. D., Hanselman, R. C., Parrott, J. C. and Taylor, C. B., "Selective Inductive Heating of Lymph Nodes," *Annals of surgery*, Vol. 146, No. 4, pp. 596-606, 1957.
- [5] Thomas, L., "Nanoparticle Synthesis for Magnetic Hyperthermia," Doctoral Thesis, University College London, UK, 2010.

حاوی نانوذرات کبالت، جمعیت سلول‌ها با کاهش روبرو شده است که علت آن مرگ سلول‌ها در نتیجه سمیت محیط کشت می‌باشد. بنابراین غلظت قابل استفاده در محیط بدن را می‌توان از 30 تا 70 µg/mL دانست. نتایج آزمون MTT در پژوهش حاتمی¹ و همکارانش [22]، بر روی محیط کشت سلول-های L929 حاوی نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co در مدت زمان کشت 48 ساعت نسبت به پژوهش حاضر متفاوت بود. به طوری که نتایج آن‌ها نشان داد که تمامی محیط‌های کشت با غلظت 10 تا 100 µg/mL زیست سازگار نبوده و این در حالی است که در پژوهش حاضر در غلظت‌های تا 70 µg/mL تمامی محیط‌ها زیست سازگار می‌باشد. علت بروز اختلاف در نتایج MTT می‌تواند به روش سنتز نانوذرات کامپوزیتی مربوط شود. به گونه‌ای که این احتمال وجود دارد که ذرات کبالت آزادی در نانوذرات کامپوزیتی rGO-Co سنتز شده توسط حاتمی و همکارانش وجود داشته باشد و موجب بروز سمیت سلولی شود.

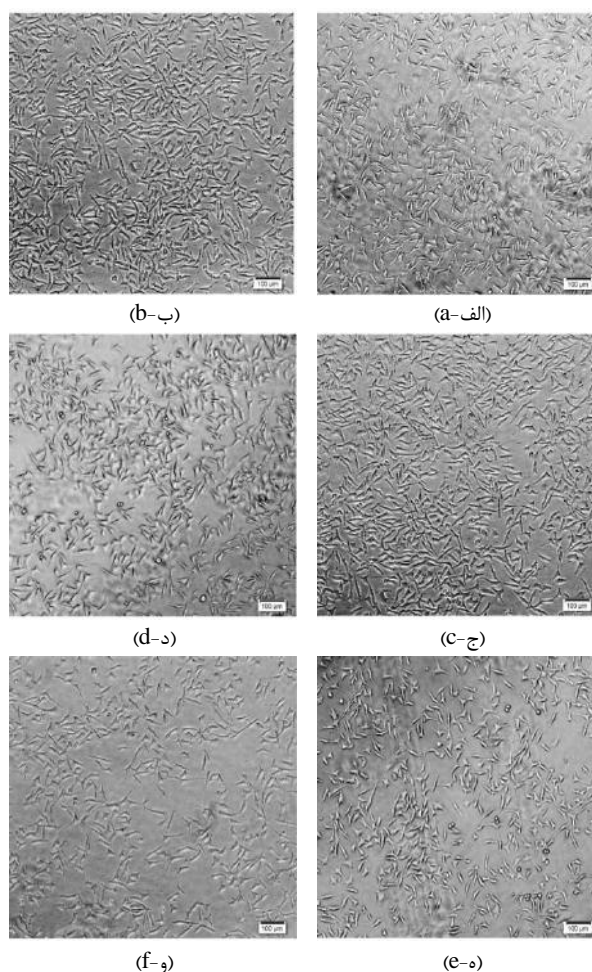


Fig. 8 Optical microscope images of cell proliferation in: a) culture medium (control sample), b) culture medium containing rGO-Co 30µg/mL, c) 50 µg/mL, d) 70 µg/mL, e) 100 µg/mL and f) culture medium containing cobalt nanoparticles (100 µg / mL)

شکل 8 تصاویر میکروسکوپ نوری از تکثیر سلولی در: الف) محیط کشت (نمونه کنترل)، ب) محیط کشت حاوی rGO-Co (30 µg/mL)، ج) محیط کشت حاوی rGO-Co (50 µg/mL)، د) محیط کشت حاوی rGO-Co (70 µg/mL)، ه) محیط کشت حاوی rGO-Co (100 µg/mL) و و) محیط کشت حاوی نانوذرات کبالت (100 µg/mL)

¹ Hatamie

- Diagnosis," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, Vol. 146, pp. 271-279, 2016.
- [23] Singh, N., Ansari, J., Pal, M., Thanh, N. T., Le, T. and Datta, A., "Synthesis and Magnetic Properties of Stable Cobalt Nanoparticles Decorated Reduced Graphene Oxide Sheets in the Aqueous Medium," *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, Vol. 31, No. 18, pp. 15108-15117, 2020.
- [24] Parkes, L. M., Hodgson, R., Lu le, T., Tung le, D., Robinson, I., Fernig, D. G. and Thanh, N. T., "Cobalt Nanoparticles as a Novel Magnetic Resonance Contrast Agent-Relaxivities at 1.5 and 3 Tesla," *Contrast Media Mol Imaging*, Vol. 3, No. 4, pp. 150-156, 2008.
- [25] Bohara, R. A., Thorat, N. D., Yadav, H. M. and Pawar, S. H., "One-Step Synthesis of Uniform and Biocompatible Amine Functionalized Cobalt Ferrite Nanoparticles: A Potential Carrier for Biomedical Applications," *New Journal of Chemistry*, Vol. 38, No. 7, pp. 2979-2986, 2014.
- [26] Zeisberger, M., Dutz, S., Müller, R., Hergt, R., Matoussevitch, N. and Bönnemann, H., "Metallic Cobalt Nanoparticles for Heating Applications," *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, Vol. 311, pp. 224-227, 2007.
- [27] Mahmoudi, K., Bouras, A., Bozec, D., Ivkov, R. and Hadjipanayis, C., "Magnetic Hyperthermia Therapy for the Treatment of Glioblastoma: A Review of the Therapy's History, Efficacy and Application in Humans," *International Journal of Hyperthermia*, Vol. 34, No. 8, pp. 1316-1328, 2018.
- [28] Dar, M. S., Akram, K. B., Sohail, A., Arif, F., Zabihi, F., Yang, S., Munir, S., Zhu, M., Abid, M. and Nauman, M., "Heat Induction in Two-Dimensional Graphene-Fe₃O₄ Nanohybrids for Magnetic Hyperthermia Applications with Artificial Neural Network Modeling," *RSC Advances*, Vol. 11, No. 35, pp. 21702-21715, 2021.
- [29] Prabhakaran, T., Udayabhaskar, R., Mangalaraja, R. V., Sahlevani, S. F., Freire, R. M., Denardin, J. C., Béron, F., Varaprasad, K., Gracia-Pinilla, M. A., Vinicius-Araújo, M. and Bakuzis, A. F., "Probing the Defect-Induced Magnetocaloric Effect on Ferrite/Graphene Functional Nanocomposites and Their Magnetic Hyperthermia," *The Journal of Physical Chemistry C*, Vol. 123, No. 42, pp. 25844-25855, 2019.
- [30] Narayanaswamy, V., Obaidat, I. M., Kamzin, A. S., Latiyan, S., Jain, S., Kumar, H., Srivastava, C., Alaabed, S. and Issa, B., "Synthesis of Graphene Oxide-Fe₃O₄ Based Nanocomposites Using the Mechanochemical Method and in Vitro Magnetic Hyperthermia," *International journal of molecular sciences*, Vol. 20, No. 13, p. 3368, 2019.
- [31] Bai, L.-Z., Zhao, D.-L., Xu, Y., Zhang, J.-M., Gao, Y.-L., Zhao, L.-Y. and Tang, J.-T., "Inductive Heating Property of Graphene Oxide-Fe₃O₄ Nanoparticles Hybrid in an Ac Magnetic Field for Localized Hyperthermia," *Materials Letters*, Vol. 68, pp. 399-401, 2012.
- [32] Shi, X., Gong, H., Li, Y., Wang, C., Cheng, L. and Liu, Z., "Graphene-Based Magnetic Plasmonic Nanocomposite for Dual Bioimaging and Photothermal Therapy," *Biomaterials*, Vol. 34, No. 20, pp. 4786-4793, 2013.
- [33] Baldi, G., Lorenzi, G. and Ravagli, C., "Hyperthermic Effect of Magnetic Nanoparticles under Electromagnetic Field," *Processing and Application of Ceramics*, Vol. 3, No. 1-2, pp. 103-109, 2009.
- [34] Özdoğan, N., Kapukiran, F., Öztürk Er, E. and Bakirdere, S., "Magnetic Cobalt Particle-Assisted Solid Phase Extraction of Tellurium Prior to Its Determination by Slotted Quartz Tube-Flame Atomic Absorption Spectrophotometry," *Environmental Monitoring and Assessment*, Vol. 191, No. 6, p. 339, 2019.
- [35] Meng, Q., Guo, S., Zhao, X. and Veintemillas-Verdaguer, S., "Bulk Metastable Cobalt in Fcc Crystal Structure," *Journal of Alloys and Compounds*, Vol. 580, pp. 187-190, 2013.
- [36] Ghobadi, N., Hosseini Moradi, S. A. and Amirzade, M., "Synthesis and Structural, Magnetic, and Electromagnetic Characterization of Cobalt Ferrite/Reduced Graphene Oxide Composite," *In Persian, Journal of Advanced Materials in Engineering* Vol. 40, No. 4, pp. 69-83, 2022.
- [6] Rosensweig, R. E., "Heating Magnetic Fluid with Alternating Magnetic Field," *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, Vol. 252, pp. 370-374, 2002.
- [7] Jordan, A., Wust, P., Fähling, H., John, W., Hinz, A. and Felix, R., "Inductive Heating of Ferrimagnetic Particles and Magnetic Fluids: Physical Evaluation of Their Potential for Hyperthermia," *Int J Hyperthermia*, Vol. 25, No. 7, pp. 499-511, 2009.
- [8] Yadav, A. N., Singh, A. K., Kumar, P. and Singh, K., "Graphene-Induced Room Temperature Ferromagnetism in Cobalt Nanoparticles Decorated Graphene Nanohybrid," *Nanoscale Research Letters*, Vol. 15, No. 1, pp. 1-8, 2020.
- [9] DeNardo, S. J., DeNardo, G. L., Miers, L. A., Natarajan, A., Foreman, A. R., Gruettner, C., Adamson, G. N. and Ivkov, R., "Development of Tumor Targeting Bioprobes (111In-Chimeric L6 Monoclonal Antibody Nanoparticles) for Alternating Magnetic Field Cancer Therapy," *Clinical cancer research*, Vol. 11, No. 19, pp. 7087-7092, 2005.
- [10] Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., Vander Elst, L. and Muller, R. N., "Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications," *Chemical reviews*, Vol. 108, No. 6, pp. 2064-2110, 2008.
- [11] Ali, A., Hira Zafar, M. Z., ul Haq, I., Phull, A. R., Ali, J. S. and Hussain, A., "Synthesis, Characterization, Applications, and Challenges of Iron Oxide Nanoparticles," *Nanotechnology, science and applications*, Vol. 9, p. 49, 2016.
- [12] Verma, J., Lal, S. and Van Noorden, C. J., "Nanoparticles for Hyperthermic Therapy: Synthesis Strategies and Applications in Glioblastoma," *International journal of nanomedicine*, Vol. 9, p. 2863, 2014.
- [13] Gutiérrez, T. J. and Alvarez, V. A., "Nanoparticles for Hyperthermia Applications," in: *Handbook of Nanomaterials for Industrial Applications*, pp. 563-576, 2018.
- [14] Chan, K. and Chou, C., "Use of Thermocouples in the Intense Fields of Ferromagnetic Implant Hyperthermia," *International Journal of Hyperthermia*, Vol. 9, No. 6, pp. 831-848, 1993.
- [15] Romanus, E., Matoussevitch, N., Prass, S., Heinrich, J., Müller, R., Berkov, D., Bönnemann, H. and Weber, P., "Magnetic Characterization of Cobalt Nanoparticles by Temperature Dependent Magnetic Relaxation Measurements," *Applied organometallic chemistry*, Vol. 18, No. 10, pp. 548-552, 2004.
- [16] Zhang, X., Wen, G., Xiao, G. and Sun, S., "Magnetic Relaxation of Diluted and Self-Assembled Cobalt Nanocrystals," *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, Vol. 261, No. 1-2, pp. 21-28, 2003.
- [17] Hütten, A., Sudfeld, D., Ennen, I., Reiss, G., Wojczykowski, K. and Jutzi, P., "Ferromagnetic Feco Nanoparticles for Biotechnology," *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, Vol. 293, No. 1, pp. 93-101, 2005.
- [18] Hergt, R., Dutz, S., Müller, R. and Zeisberger, M., "Magnetic Particle Hyperthermia: Nanoparticle Magnetism and Materials Development for Cancer Therapy," *Journal of Physics: Condensed Matter*, Vol. 18, No. 38, p. 2919, 2006.
- [19] Sha, A., Hassan, R., Aa, A., Alomayri, T. and Alamri, H., "Magnetic Hyperthermia Using Cobalt Ferrite Nanoparticles: The Influence of Particle Size," *International Journal of Advancements in Technology*, Vol. 08, pp.567-579, 2017.
- [20] Khan, M. A. M., Khan, W., Ahamed, M., Ahmed, J., Al-Gawati, M. A. and Alhazaa, A. N., "Silver-Decorated Cobalt Ferrite Nanoparticles Anchored onto the Graphene Sheets as Electrode Materials for Electrochemical and Photocatalytic Applications," *ACS Omega*, Vol. 5, No. 48, pp. 31076-31084, 2020.
- [21] Liu, Z., Xu, G., Zhang, M., Xiong, K. and Meng, P., "Synthesis of CoFe₂O₄/rGO Nanocomposites by Click Chemistry and Electromagnetic Wave Absorption Properties," *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, Vol. 27, pp. 9278-9285, 2016.
- [22] Hatamie, S., Ahadian, M. M., Ghiass, M. A., Irajizad, A., Saber, R., Parseh, B., Oghabian, M. A. and Shanehsazzadeh, S., "Graphene/Cobalt Nanocarrier for Hyperthermia Therapy and Mri

- [37] Malinga, N. N. and Jarvis, A. L. L., "Synthesis, Characterization and Magnetic Properties of Ni, Co and FeCo Nanoparticles on Reduced Graphene Oxide for Removal of Cr(VI)," *Journal of Nanostructure in Chemistry*, Vol. 10, No. 1, pp. 55-68, 2020.
- [38] Mostafavi, F., Sadat and Imani, R., "Synthesis and Characterization of Gelatinfunctionalized Reduced Graphene Oxide for Drug Delivery Application," In Persian, *Pathobiology Research*, Vol. 23, pp. 75-85, 2021.
- [39] Sarkar, S., Raul, K., Pradhan, S., Basu, S. and Nayak, A., "Magnetic Properties of Graphite Oxide and Reduced Graphene Oxide," *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, Vol. 64, pp. 78-82, 2014.
- [40] Aghaie Doost, S. F. and Ansari, N., "Effect of Solution Ph on Magnetization of Graphene-Cobalt Nanocomposite Synthesized by Electrochemical Deposition Technique," In Persian, *Journal of Advanced Materials and Technologies (JAMT)*, Vol. 8, pp. 59-69, 2019.
- [41] Reyes-Ortega, F., Delgado, Á. V., Schneider, E. K., Checa Fernández, B. L. and Iglesias, G. R., "Magnetic Nanoparticles Coated with a Thermosensitive Polymer with Hyperthermia Properties" *Polymers*, Vol. 10, No. 1, p. 10, 2018.
- [42] Liu, X., Zhang, Y., Wang, Y., Zhu, W., Li, G., Ma, X., Zhang, Y., Chen, S., Tiwari, S., Shi, K., Zhang, S., Fan, H. M., Zhao, Y. X. and Liang, X.-J., "Comprehensive Understanding of Magnetic Hyperthermia for Improving Antitumor Therapeutic Efficacy," *Theranostics*, Vol. 10, No. 8, pp. 3793-3815, 2020.
- [43] Ferrero, R., Barrera, G., Celegato, F., Vicentini, M., Sözeri, H., Yıldız, N., Atila Dinçer, C., Coisson, M., Manzin, A. and Tiberto, P., "Experimental and Modelling Analysis of the Hyperthermia Properties of Iron Oxide Nanocubes," *Nanomaterials*, Vol. 11, No. 9, p. 2179, 2021.