

INSTITUTO DE ENGENHARIA NUCLEAR

CLAUDIA ANTOINE

**AVALIAÇÃO DOS PONTOS QUÂNTICOS DE GRAFENO COMO AGENTE DE
CONTRASTE PARA RAIO-X E TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA**

RIO DE JANEIRO

2025

CLAUDIA ANTOINE

**AVALIAÇÃO DOS PONTOS QUÂNTICOS DE GRAFENO COMO AGENTE DE
CONTRASTE PARA RAIO-X E TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós- Graduação em Ciência e Tecnologia
Nucleares do Instituto de Engenharia
Nuclear da Comissão Nacional de Energia
Nuclear como parte dos requisitos
necessários para a obtenção do Grau de
Mestre em Ciências e Tecnologias
Nucleares.

Orientador: Prof. Dr. Ralph Santos-Oliveira

RIO DE JANEIRO

2025

Antoine, Cláudia

Avaliação Dos Pontos Quânticos Grafeno Como Agente De Contraste Para Raio-X E Tomografia Computadorizada/Cláudia Antoine – Rio de Janeiro, IEN, 2025.

64fl., il. 15; 31 cm.

Orientador: Prof. Dr. Ralph Santos Oliveira

Dissertação de Mestrado – Instituto de Engenharia Nuclear, Rio de Janeiro, 2025.

1. Nanomateriais. 2. Grafeno. 3. Diagnóstico por imagem. 4. Medicina nuclear.

AVALIAÇÃO DOS PONTOS QUÂNTICOS DE GRAFENO COMO AGENTE DE CONTRASTE PARA RAIO-X E TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA

Claudia Antoine

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO PROGRAMA DE
PÓS- GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA NUCLEARES DO
INSTITUTO DE ENGENHARIA NUCLEAR COMO REQUISITO PARCIAL
NECESSÁRIO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS
E TECNOLOGIA NUCLEARES.

Aprovado (a) por:

Natália Yoshihara, Doutora, Rio de Janeiro

Documento assinado digitalmente
 NATALIA MAYUMI ANDRADE YOSHIHARA
Data: 06/05/2025 21:26:54-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Banca 1- Título Acadêmico – Local

Julio Cezar Suita, Doutor, Rio de Janeiro

Documento assinado digitalmente
 JULIO CEZAR SUITA
Data: 12/05/2025 09:04:31-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Banca 2 -Título Acadêmico – Local

Marilia Amável Gomes Soares, Doutora, Rio de Janeiro

Documento assinado digitalmente
 MARILIA AMAVEL GOMES SOARES
Data: 14/05/2025 16:49:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Banca 3 – Título Acadêmico - Local

Prof. Dr. Ralph Santos-Oliveira, Instituto de Engenharia Nuclear,

Documento assinado digitalmente
 RALPH SANTOS OLIVEIRA
Data: 23/05/2025 14:57:42-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

RIO DE JANEIRO

2025

DEDICATÓRIA

A minha mãe Marina que sempre esteve ao meu lado, me apoiando de um jeitinho todo especial, que somente as mães são capazes. Ao meu avô Leon Henri Eugen Antoine que me foi uma inspiração, um francês aventureiro, pioneiro na aviação. Um dos primeiros a atravessar o Oceano Atlântico.

AGRADECIMENTOS

A meus antepassados; bisavós, avós e pai, que já partiram e me deixaram valores para prosseguir esta jornada. Aos amigos e colegas que me deram apoio, motivação e auxílio em várias etapas deste trabalho.

Aos meus encarregados que me deram suporte.

Ao professor Leonardo Pacífico LCR/UERJ em seu apoio e ideias brilhantes. Aos professores que durante o curso se dispuseram a dedicar seu tempo precioso em agregar conhecimento a todos, durante e pós a crise sanitária decretada pela OMS do covid 19. Pelos desafios enfrentados diante a situação emergencial.

A secretária, incrível Leila Carla Brum, grande incentivadora. A direção do Instituto Engenharia Nuclear, pelo apoio prestado durante o desenvolvimento do trabalho.

Ao Instituto de Engenharia Nuclear, pela chance para realização deste trabalho. Ao meu orientador Prof. Dr. Ralph Santos-Oliveira, que mantém um excelente ambiente de trabalho proporcionando igualitariamente oportunidades de pesquisa a todos envolvidos em suas pesquisas e laboratório.

Em especial a equipe de pesquisa do laboratório Martha Sahylí Ortega Pijeira, Eduardo Ricci-Junior, Luciana Magalhaes Rebello Alencar, que estiveram no laboratório durante este trabalho.

A Deus que me permitiu saúde e coragem para participar deste desafio, com sentimento de aventura.

Confúcio

“Uma imagem fala mais que mil palavras.”

Vicent Van Gogh

“Uma boa imagem é equivalente a uma boa ação.”

(Alice no País das Maravilhas, livro por Lewis Carroll)

“A única forma de chegar ao impossível, é acreditar que é possível.”

RESUMO

A crescente demanda por agentes de contraste inovadores para aplicações em raios X e tomografia computadorizada (TC) reflete as limitações impostas pela disponibilidade restrita das opções atualmente empregadas, apesar de ambas as modalidades serem amplamente utilizadas em diagnósticos clínicos. Nesse contexto, os pontos quânticos de grafeno (Graphene Quantum Dots, GQDs), uma classe emergente de nanomateriais pertencentes à família do grafeno, destacam-se como potenciais candidatos devido a suas propriedades únicas, incluindo baixa toxicidade, elevada biocompatibilidade e características físicas. O presente trabalho investigou a aplicabilidade dos GQDs como agentes de contraste em raios X e TC, com base em análises experimentais realizadas nessas modalidades de imagem. Os resultados demonstraram que os GQDs possuem capacidade significativa de atenuar os raios X, resultando na formação de imagens nítidas e de alta qualidade em ambas as técnicas avaliadas. Essas descobertas ampliam o espectro de aplicações diagnósticas dos GQDs, evidenciando seu potencial como alternativa inovadora para o desenvolvimento de novos agentes de contraste no campo da bioimagem.

Palavra-chave: Nanomateriais, grafeno, diagnóstico por imagem

ABSTRACT

The growing demand for innovative contrast agents for applications in X-rays and computed tomography (CT) reflects the limitations imposed by the restricted availability of currently employed options, despite both modalities being widely used in clinical diagnostics. In this context, graphene quantum dots (GQDs), an emerging class of nanomaterials within the graphene family, stand out as potential candidates due to their unique properties, including low toxicity, high biocompatibility, and favorable physical characteristics. This study investigated the applicability of GQDs as contrast agents in X-rays and CT, based on experimental analyses conducted using these imaging modalities. The results demonstrated that GQDs exhibit significant X-ray attenuation capability, leading to the formation of sharp and high-quality images in both evaluated techniques. These findings expand the diagnostic applications of GQDs, highlighting their potential as an innovative alternative for the development of new contrast agents in the field of bioimage.

Keywords: Nanomaterials, graphene, diagnostic imaging

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura1	19
Figura2	21
Figura3	26
Figura4	27
Figura5	28
Figura6	29
Figura7	50
Figura8	53
Figura9	54
Figura10	56
Figura11	58
Figura12	60

LISTA TABELAS

Tabela1	26
Tabela2	30
Tabela3	60

LISTA DE ABREVIACÕES

0D – Zero dimensão

1D – Uma dimensão ou Unidimensional

2D – Segunda dimensão ou Bidimensional

3D – Terceira dimensão ou Tridimensional

AFM – Microscopia de Força Atômica (Atomic Force Microscopy)

Arg – Arginina (Aminoácido)

Asn – Asparagina (Aminoácido)

BCRJ – Banco de Células do Rio de Janeiro

B-G – Grafeno Dopado com Boro (Boron-Doped Graphene)

CVD-G – Grafeno por Deposição de Vapor Químico (Chemical Vapor Deposition Graphene)

cm – Centímetros

TC – Tomografia Computadorizada

d.C. – Depois de Cristo

DLS – Espalhamento de Luz Dinâmica (Dynamic Light Scattering)

DMEM – Dulbecco's Modified Eagle Medium

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DOX – Doxorrubicina

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

FBS – Soro fetal bovino (Fetal Bovine Serum)

FGH – Fibroblastos gengivais humanos

Gly – Glicina (Aminoácido)

GO – Óxido de Grafeno (Graphene Oxide)

GQD – Pontos Quânticos de Grafeno (Graphene Quantum Dots)

HEPES – Ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinoetanossulfônico

HU – Unidades de Hounsfield

keV – Quiloeletrovolt

kg – Quilograma

M – Molar

mA – Miliampere

MeV – Megaeletrovolt

mg – Miligrama

mL – Mililitro

mM – Milimolar

MLG – Grafeno Multicamada (Multi-Layer Graphene)

ms – Milissegundo

MTT – Brometo de (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio)

N-G – Grafeno Dopado com Nitrogênio (Nitrogen-Doped Graphene)

NGR – Peptídeo (Asparagina-Glicina-Arginina)

nm – Nanômetro

OD – Detritos oxidativos

pKa – Logaritmo negativo da constante de dissociação ácida (Ka)

P-G – Grafeno Dopado com Fósforo (Phosphorus-Doped Graphene)

Ref. – Referência

rGO – Óxido de Grafeno Reduzido (Reduced Graphene Oxide)

RM – Ressonância Magnética

s – Segundo

SLG – Grafeno Monocamada (Single-Layer Graphene)

SPECT – Tomografia Computadorizada por Emissão de Fóton Único (Single Photon Emission Computed Tomography)

U – Unidade

uL – Microlitro

UV – Ultravioleta

XRD – Difração de Raios X (X-Ray Diffraction)

Z – Número atômico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS.....	17
. 2.1. OBJETIVO GERAL.....	17
. 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
. 3.1. PROCESSO DE SÍNTESE DOS PONTOS QUÂNTICOS DE GRAFENO.....	18
. 3.1.1 Reagentes.....	19
. 3.2.1 Processo de Síntese dos Pontos Quânticos de Grafeno	20
. 3.2. CARACTERIZAÇÃO DOS PONTOS QUÂNTICOS DE GRAFENO	20
. 3.2.1 Microscopia de Força Atômica	22
. 3.2.2. Espalhamento de Luz Dinâmico	22
. 3.2.3. Espectroscopia Raman	23
. 3.2.4. Difração de Raios X	23
. 3.3. IMAGEM BIMODAL DAS AMOSTRAS DE PONTOS QUÂNTICOS DE GRAFENO	23
. 3.3.1 Raios X.....	23
. 3.4. ENSAIO <i>IN VITRO</i>	24
. 3.4.1. Cultivo Celular.....	24
. 3.4.2. Ensaio de Citotoxicidade	25
. 3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	25
4. RESULTADOS	25
. 4.1. CARACTERIZAÇÃO DOS PONTOS QUÂNTICOS DE GRAFENO	26
. 4.2. IMAGEM BIMODAL: RAIO-X E TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA	27
. 4.3. ENSAIO <i>IN VITRO</i>	30
5. DISCUSSÃO	31
6. CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS.....	36
APÊNDICE.....	48
ANEXO 1.....	63

1. INTRODUÇÃO

No final do século XIX e no início do século XX, uma série de descobertas científicas revolucionou os fundamentos da ciência moderna, desafiando paradigmas consolidados e abrindo novos horizontes para o conhecimento humano. Dentre essas inovações, os raios X emergiram como uma das descobertas mais impactantes da física, cuja influência transcendeu o âmbito científico, alcançando diversos setores da sociedade. No entanto, foi na medicina que os raios X demonstraram seu potencial mais transformador, permitindo a visualização não invasiva do interior do corpo humano. A descoberta dos raios X por Wilhelm Conrad Roentgen em 1895 revolucionou a prática médica, impulsionando avanços significativos nos campos da anatomia e fisiologia humana [129]; [132].

Ao longo dos quase [130] anos desde sua descoberta, a tecnologia associada aos raios X evoluiu consideravelmente, incorporando equipamentos modernos e sistemas computacionais avançados que possibilitam imagens tridimensionais de alta resolução. Entretanto, os agentes de contraste utilizados nos exames de imagem não acompanharam o mesmo ritmo de inovação, tornando a busca por substâncias mais seguras e eficazes uma prioridade na pesquisa médica [130]; [131]. Nesse contexto, o grafeno surge como uma alternativa promissora para o desenvolvimento de novos meios de contraste, oferecendo potencial para revolucionar a imaginologia médica por meio de suas propriedades únicas, como alta condutividade elétrica, transparência e resistência mecânica [132]; [131].

A relevância deste estudo reside na necessidade de encontrar agentes de contraste mais eficientes e sustentáveis, reduzindo os efeitos adversos nos pacientes e os impactos ambientais associados ao descarte dessas substâncias. Assim como os raios X transformaram a medicina no século XIX, o grafeno apresenta-se como um dos materiais mais inovadores do século XXI, possuindo características que podem otimizar significativamente os exames de imagem [130], [131]. Dessa forma, investigar as aplicações do grafeno e seus derivados na medicina diagnóstica não apenas contribui para o avanço da nanotecnologia, mas também pode representar um marco na melhoria da segurança e da qualidade dos procedimentos radiológicos.

Para avaliar a viabilidade dos pontos quânticos de grafeno (GQDs) como agentes de contraste em exames de imagem, esta pesquisa objetiva sua síntese por rota eletroquímica sustentável, garantindo alta eficiência e pureza. Além disso, os GQDs serão caracterizados por técnicas como microscopia de força atômica (AFM), espalhamento de luz dinâmico (DLS), espectroscopia Raman e difração de raios X (XRD). Sua aplicabilidade será investigada em técnicas bimodais, incluindo tomografia computadorizada (TC) e raios X, analisando diferentes concentrações para avaliar a atenuação do contraste. Por fim, a biocompatibilidade dos GQDs será examinada *in vitro*, utilizando fibroblastos gengivais humanos (FGH) como modelo celular e o ensaio MTT para avaliar sua citotoxicidade. [132]; [131].

Diante desse cenário, este estudo tem como objetivo analisar as propriedades e aplicações dos pontos quânticos de grafeno (PQG) como agentes de contraste para exames de imagem, enfatizando sua viabilidade como alternativa aos meios convencionais. Para isso, serão abordadas as principais características do grafeno e sua evolução, os desafios da síntese dos PQG e suas potenciais aplicações na área médica. [129]; [130].

A pesquisa sobre o grafeno remonta ao século XIX, mas foi apenas na década de 1990, com os avanços no estudo dos nanotubos de carbono, que o material ganhou maior notoriedade. Em 1994, a International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) definiu oficialmente o termo "grafeno", impulsionando novas pesquisas sobre suas propriedades e aplicações. No entanto, os métodos iniciais de isolamento do grafeno eram limitados à escala laboratorial, o que motivou o desenvolvimento de técnicas de síntese mais eficientes e economicamente viáveis. [130]; [132]

No campo da nanotecnologia, os pontos quânticos (PQ) vêm se destacando devido às suas propriedades ópticas únicas. Esses semicondutores nanocristalinos, ao serem expostos à radiação eletromagnética, produzem um par elétron-buraco denominado exciton, sofrendo confinamento quântico em três dimensões espaciais. Esse fenômeno gera uma forte dependência da emissão luminosa em relação ao tamanho das partículas, o que torna os PQ ideais para aplicações em dispositivos optoeletrônicos, fotovoltaicos e biomédicos. No entanto, a síntese convencional desses materiais frequentemente envolve metais pesados, como o cádmio, altamente tóxicos, o que limita sua aplicação em ambientes clínicos [132]; [131].

Com essa limitação, os pontos quânticos de grafeno (PQG) surgem como uma alternativa mais segura e sustentável. Descobertos acidentalmente em 2004 durante a purificação de nanotubos de carbono por eletroforese, os PQG vêm sendo amplamente estudados devido às suas propriedades fotofísicas favoráveis e baixa toxicidade [131], [129]. Além disso, métodos de síntese como bottom-up e top-down vêm sendo explorados para aprimorar sua produção e otimizar suas aplicações médicas.

Assim, a integração das propriedades avançadas do grafeno com a tecnologia de raios X representa uma fronteira promissora para a medicina diagnóstica. A busca por novos agentes de contraste baseados em nanomateriais de carbono, como os PQG, pode não apenas melhorar a eficácia e segurança dos exames de imagem, mas também contribuir para o desenvolvimento de soluções mais sustentáveis e menos impactantes ao meio ambiente. Essa convergência entre ciência dos materiais e medicina reforça a importância da pesquisa interdisciplinar e dos investimentos contínuos em inovação tecnológica e científica.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a aplicabilidade dos pontos quânticos de grafeno (GQDs) como agentes de contraste em imagens de raios X e tomografia computadorizada.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Sintetizar os pontos quânticos de grafeno (GQDs) por rota eletroquímica sustentável, para garantir a alta eficiência e pureza;
2. Caracterizar os GQDs quanto às suas propriedades morfológicas, estruturais e vibracionais por meio de técnicas como microscopia de força atômica (AFM), espalhamento de luz dinâmico (DLS), espectroscopia Raman e difração de raios X (XRD);
3. Avaliar as propriedades de atenuação dos GQDs em técnicas de imagem bimodal, incluindo tomografia computadorizada (TC) e raios X, utilizando diferentes concentrações para determinar sua aplicabilidade como agentes de contraste;
4. Investigar a biocompatibilidade dos GQDs em condições *in vitro*, utilizando fibroblastos gengivais humanos (FGH) como modelo celular, por meio do ensaio colorimétrico de MTT para determinar a citotoxicidade em diferentes concentrações.

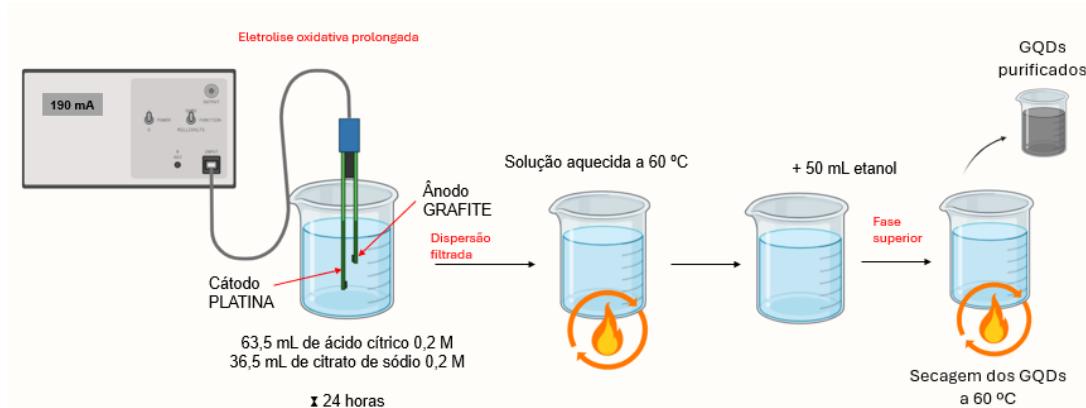
3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. PROCESSO DE SÍNTESE DOS PONTOS QUÂNTICOS DE GRAFENO

A síntese e caracterização dos GQDs foram amplamente descritas [94, 105 e 106], em resumo, os GQDs foram obtidos por meio de uma rota eletroquímica sustentável, utilizando um eletrodo de grafite como ânodo e um de platina como cátodo, em uma solução de ácido cítrico/citrato de sódio (Sigma-Aldrich, EUA). O eletrólito foi preparado pela mistura de 63,5 mL de ácido cítrico 0,2 M com 36,5 mL de citrato de sódio 0,2 M, totalizando 100 mL de solução. O processo eletroquímico foi prolongado sob corrente constante de 190 mA durante 24 horas, utilizando uma fonte de alimentação ajustável ICEL PS-1500.

Após a eletrólise oxidativa, a dispersão resultante foi filtrada para remoção de partículas maiores. A suspensão filtrada foi submetida à secagem a 60 °C, com o objetivo de reduzir o volume da dispersão para 10 mL. Em seguida, foram adicionados 50 mL de etanol à dispersão, e a fase superior correspondente aos GQDs purificados foi recolhida e seca a 60 °C para finalmente ser armazenada ou direcionada para as técnicas de caracterização. [94, 105 e 106].

Figura 1. Representação da eletrolise oxidativa prolongada.



3.1.1 Reagentes

Os reagentes utilizados no experimento foram selecionados com base em sua pureza e adequação às etapas da síntese e caracterização dos pontos quânticos de grafeno. O óxido de grafeno (GO), apresentou grau de pureza superior a 99% [133]. O ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$) foi utilizado como agente redutor, fundamental para a conversão do GO em pontos quânticos de grafeno [134]. O dimetilsulfóxido (DMSO) foi empregado como solvente para dispersão das amostras, garantindo uma

adequada solubilização dos materiais [135].

Além disso, o tampão fosfato-salino (PBS) foi utilizado para manutenção do pH adequado durante os ensaios *in vitro*, assegurando um ambiente estável para as células [128]. O soro fetal bovino (FBS), essencial para o cultivo celular e utilizado para suplementação do meio de cultura, garantindo a viabilidade celular [128]. O meio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) foi empregado para o cultivo das células, contendo glicose, glutamina e piruvato de sódio, elementos fundamentais para a manutenção metabólica celular [134]. Por fim, os antibióticos penicilina e estreptomicina foram adicionados para evitar contaminações microbiológicas durante os ensaios *in vitro* [128].

3.2.1 Processo de Síntese dos Pontos Quânticos de Grafeno

A síntese dos pontos quânticos de grafeno foi realizada a partir da redução química do óxido de grafeno (GO) utilizando ácido ascórbico como agente redutor. Inicialmente, o GO foi disperso em solução aquosa sob agitação ultrassônica para garantir sua homogeneização. Em seguida, a solução de ácido ascórbico foi lentamente adicionada à dispersão de GO sob temperatura controlada, promovendo a redução parcial do material e a formação dos pontos quânticos de grafeno [133]. O processo foi mantido sob agitação contínua durante um período previamente estabelecido, permitindo a conversão eficiente do GO em nanomateriais fluorescentes de dimensões reduzidas [134].

Após a reação, a solução foi submetida a centrifugação para remoção de resíduos não reagidos, e os pontos quânticos de grafeno foram separados e purificados para posterior caracterização [135]. Esse método de síntese permite a obtenção de nanopartículas com propriedades ópticas e estruturais bem definidas, adequadas para aplicações biomédicas e tecnológicas [137].

3.2. CARACTERIZAÇÃO DOS PONTOS QUÂNTICOS DE GRAFENO

O Microscópio de Força Atômica (AFM) é um instrumento científico projetado para gerar imagens morfológicas de amostras por meio da detecção de forças intermoleculares, tanto de atração quanto de repulsão, entre a ponta do equipamento e o material em análise. Uma sonda de dimensões nanométricas interage com a superfície da amostra, realizando uma varredura em uma área

específica, conforme parâmetros predefinidos, como modo de operação, frequência de varredura e resolução de imagem. Os dados coletados durante a varredura são processados por um sistema computacional, que gera uma representação topográfica detalhada da amostra. [135, 136]

A Espectroscopia Raman é uma técnica analítica amplamente utilizada para diagnóstico e investigação científica, permitindo a identificação de características moleculares associadas a doenças e fornecendo informações quantitativas e objetivas para o diagnóstico e monitoramento de tratamentos. Essa técnica baseia-se nas vibrações e rotações moleculares relacionadas às ligações químicas presentes na amostra, possibilitando a obtenção de dados sobre sua composição, estrutura e interações intermoleculares. No processo de espalhamento Raman, um feixe de luz monocromática interage com o material, resultando em uma dispersão de luz com frequência óptica deslocada em relação à luz incidente, devido a alterações específicas na frequência do material. A análise da intensidade da luz dispersa inelásticamente em função da frequência permite a obtenção de uma "impressão digital" espectroscópica única da amostra. [135, 136]

A difratometria de raios X é uma técnica analítica que consiste na incidência de radiação sobre uma amostra, seguida pela detecção do feixe de fôtons resultante. Essa metodologia é particularmente eficaz para a análise de materiais com estrutura cristalina, onde os átomos estão organizados de forma periódica no espaço. Por sua vez, a técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS), também conhecida como espalhamento de luz quase-elástico (QELS), é um método não invasivo amplamente utilizado para determinar o tamanho e a distribuição de partículas e moléculas. Aplicada principalmente na análise de partículas submicrométricas, a DLS tem sido aprimorada tecnologicamente, permitindo a medição de partículas com dimensões inferiores a 1 nm. [133, 137]



Figura 2. Técnicas de caracterização de pontos quânticos de grafeno (GQDs)

3.2.1 Microscopia de Força Atômica

Para a caracterização morfológica dos GQDs, foi empregada a técnica de microscopia de força atômica (AFM). Primeiramente, as amostras de GQDs foram dissolvidas em água destilada. Posteriormente, 10 µL da solução foram depositados sobre mica recém clivada e deixados para secar à temperatura ambiente. As medições foram realizadas utilizando um microscópio Multimode 8 (Bruker, Santa Barbara, CA) operando no modo Quantitative Nanomechanics (QNM). Para tal, foram empregadas sondas do modelo Scanasyst Air, com constante de mola nominal de 0,4 N/m e raio nominal da ponta de aproximadamente 2 nm. A análise das seções das partículas foi conduzida com o software NanoScope Analysis 1.50, sendo que as imagens obtidas apresentaram resolução de 256 amostras por linha.

3.2.2. Espalhamento de Luz Dinâmico

A determinação do tamanho foi realizada por espalhamento de luz dinâmico (DLS) utilizando o equipamento Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Reino Unido). Todas as medições foram realizadas em triplicata, a 25 °C, com um ângulo de incidência do laser em relação à amostra de 173°, utilizando uma cubeta de quartzo com área de 12 mm².

3.2.3. Espectroscopia Raman

Para avaliar as propriedades vibracionais e consequentemente os compostos químicos presentes nas amostras de pontos quânticos de grafeno, os espectros Raman foram obtidos utilizando um espectrômetro triplo Horiba-Jobin-Yvon (modelo T64000). O equipamento estava equipado com um acessório confocal e um detector CCD resfriado com nitrogênio líquido. A excitação foi gerada por uma linha verde

(532,0 nm) de um laser de estado sólido (LAS-532-100-HREV), operando a 14 mW. A luz foi focalizada na amostra por meio de um microscópio Olympus com objetiva MPLN de 100x. O acessório confocal limitou o ponto de dispersão da luz. Os espectros foram adquiridos de duas maneiras: (i) em diferentes pontos da superfície da amostra; e, (ii) variando a posição ao longo da direção vertical, centrada em uma partícula.

3.2.4. Difração de Raios X

Com o objetivo de avaliar a composição química e estrutural do material, os GQDs também foram caracterizados por difração de raios X (XRD). Para tal, foi utilizado um difratômetro Bruker AXS D8 Advance, equipado com radiação CuK α , operando a 40 mA/40 kV. As análises foram realizadas em dois intervalos de ângulo: alto ($2\theta = 15^\circ$ - 68°) e baixo ($2\theta = 1,3^\circ$ - $8,3^\circ$).

3.3. IMAGEM BIMODAL DAS AMOSTRAS DE PONTOS QUÂNTICOS DE GRAFENO

3.3.1 Raios X

As propriedades de atenuação de raios X dos GQDs foram avaliadas utilizando o equipamento RX Shimadzu 500 mA, em tubos Eppendorf. O estudo foi conduzido em três diferentes técnicas padrão. Primeiramente, a amostra foi avaliada na técnica padrão para mão (mA: 100, mAs: 6,3 e 48 kV). Em seguida, foi avaliada na técnica padrão para crânio (mA: 100, mAs: 40 e 70 kV). Por fim, a amostra foi analisada na técnica padrão para coluna (mA: 100, mAs: 40 e 70 kV). A resolução foi de 35 mm, com filtros de alumínio de 0,5 mm e tempo de exposição de 632,0 ms.

3.3.2. Tomografia Computadorizada

As propriedades de atenuação em tomografia computadorizada (TC) dos GQDs foram avaliadas em tubos Falcon com três diferentes concentrações (100%, 50% e 10% em uma relação de massa/volume), utilizando um equipamento Siemens Somatom Emotion TC 2014. Foram realizadas seções coronais e axiais.

Os parâmetros de aquisição das imagens foram: mAs fixo: 220; quilovolts ou kV: 130; pitch: 0,8 mm; espessura de fatia: 5 mm (28 imagens com 5 mm/5

mm), revolução: 9,6; tempo de aquisição: 20,51 s, com reconstrução utilizando filtro H70 sharp FR (Parênquima Pulmonar); janela pulmonar na direção craniocaudal e, por fim, incremento de 0,8 mm, além de filtros de alumínio de 0,5 mm.

3.4. ENSAIO IN VITRO

3.4.1. Cultivo Celular

As células de fibroblastos gengivais humanos (FGH) foram obtidas do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ – 0089) e submetidas ao cultivo em meio Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), enriquecido com 10% de soro fetal bovino (FBS), bicarbonato de sódio (3,7 g/L), HEPES (5,2 g/L), penicilina (0,5 U/mL) e estreptomicina (0,5 mg/mL). As culturas foram mantidas em incubadora a 37 °C, sob atmosfera controlada e umidificada, contendo 5% de dióxido de carbono (CO₂). As células foram cultivadas até atingirem confluência em frascos de cultura com área de 75 cm² e, em seguida, removidas por tratamento breve com solução de tripsina (0,1%)/EDTA (0,01 %).

3.4.2. Ensaio de Citotoxicidade

A linha celular de fibroblastos gengivais humanos (FGH) foi semeada em placas de 96 poços com densidade de 1 × 105 células por poço. Em seguida, as células foram tratadas na ausência (controle) ou presença de diferentes concentrações de pontos quânticos de grafeno (100, 50 e 25 µg/mL) por 24 horas. Após a lavagem, o número de células aderidas foi determinado por meio do ensaio colorimétrico de MTT (do inglês 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo)).

De forma resumida, após o tratamento das células FGH com os GQDs por 24 horas, as culturas foram lavadas com tampão PBS 1x para remoção de resíduos. Em seguida, foi adicionada uma solução de MTT a 1 mM, e as células foram incubadas por 2 a 3 horas em ambiente protegido da luz. Após a formação dos cristais de formazan, a solução de MTT foi cuidadosamente removida, e DMSO foi adicionado para solubilização dos cristais. Por fim, a absorbância foi medida em leitor espectrofotométrico a 540 nm, permitindo a quantificação da viabilidade celular, método similar ao descrito por Helal-Neto e colaboradores [128].

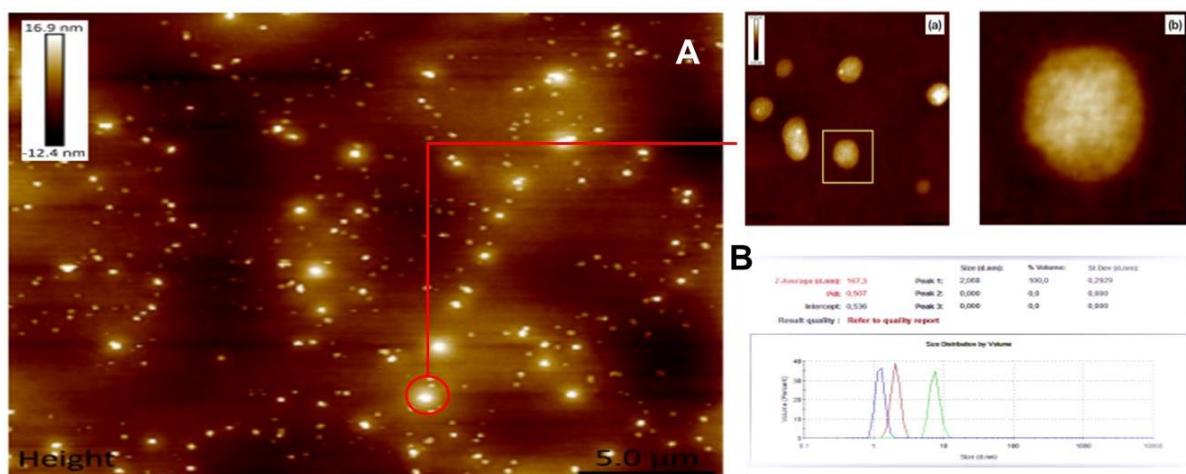
3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados em triplicata foram submetidos à análises estatísticas para comparações múltiplas foram realizadas utilizando a análise de variância simples (One way ANOVA), seguida pela análise post-hoc de Bonferroni. Para comparações entre dois grupos, foi utilizado o teste t de Student para amostras independentes. Diferenças entre os grupos foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$. As análises foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism para Windows.

4. RESULTADOS

4.1. CARACTERIZAÇÃO DOS PONTOS QUÂNTICOS DE GRAFENO

A análise de Microscopia de Força Atômica (AFM) (Figura 9A) revelou a presença de numerosos pontos quânticos (representados como pontos claros) imersos na mica, com um diâmetro médio dos GQDs variando entre 160 e 280 nm, sendo que as alturas mais frequentes estavam em torno de 5 nm. Esse valor foi



corroborado pela análise de Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) (Figura 9B).

Figura 3. Microscopia de força atômica dos pontos quânticos de grafeno. Os GQDs são observáveis nos pontos luminosos em amarelo, a morfologia é indicada na aproximação A(a) e (b). Em B, o resultado de espalhamento de luz dinâmico indicando o tamanho hidrodinâmico dos GQDs.

Os espectros Raman indicaram a presença de bandas em $\sim 1360 \text{ cm}^{-1}$ e $\sim 1600 \text{ cm}^{-1}$ (Figura 10a), as quais correspondem às bandas características D e G dos pontos quânticos de grafeno, associadas, respectivamente, a desordem ou defeitos na rede cristalina e às vibrações C-C. A análise de Difração de Raios X (XRD) confirmou a formação dos GQDs (Figura 10B), evidenciando a presença de um grande número de outros picos. Todos esses picos foram atribuídos à presença de citrato, utilizado na preparação dos GQDs, como confirmado pela análise de XRD (Tabela 1).

Tabela 1. Identificação da presença de citrato na amostra de óxido de grafeno resultante do método de fabricação utilizado.

Visível	Ref. code	Score	Componente	Fator de escala	Fórmula química
*	00-016-1180	65	Hidrogênio citrato dissódico desidratado	1.195	<chem>C6H6Na2O7·2H2O</chem>

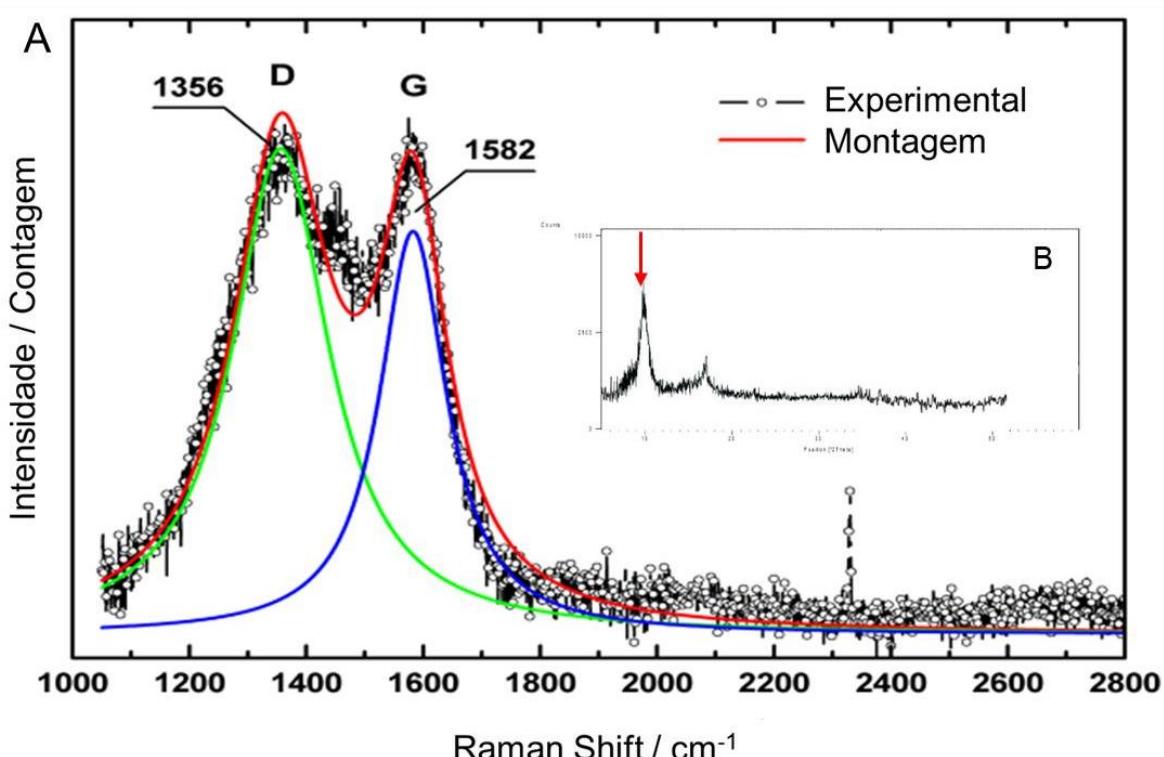


Figura 4. Espectroscopia Raman em A, indicando as bandas características do GQD; seguido da difração de raios-X em B, confirmando a presença de picos oriundos do citrato presente na síntese, na qual o maior pico é exibido pela seta vermelha.

4.2. IMAGEM BIMODAL: RAIO-X E TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA

Para explorar a potencial aplicação dos pontos quânticos de grafeno como agentes de contraste, realizamos experimentos utilizando tomografia computadorizada e raios X, cujos resultados estão apresentados nas Figuras 11 e 12. A formação de imagens por essas modalidades baseia-se na interação entre os feixes de raios X e os átomos presentes no material de interesse, cuja capacidade de gerar contraste está diretamente relacionada à densidade e número atômico dos

elementos. [105, 107]

Neste ensaio, investigamos a capacidade de atenuação dos GQDs em diferentes concentrações, utilizando tubos isolados como referência visual para análise comparativa nas imagens. Sendo possível observar um aumento gradativo e bem definido na atenuação do feixe de raios X conforme a concentração dos GQDs foi incrementada. Esse comportamento linear e dependente da concentração foi reproduzido tanto nas imagens obtidas por TC quanto naquelas de raios X convencionais, demonstrando a consistência dos dados. [104, 105]. Os resultados confirmam a hipótese inicial de que o aumento na concentração dos GQDs está diretamente relacionado a sua capacidade de atenuar feixes de raios X, tornando-os promissores como agentes de contraste para aplicações em imagens biomédicas. A alta capacidade de atenuação, aliada à possibilidade de ajuste pela concentração, destaca o potencial desses nanomateriais para otimizar a detecção de tecidos e estruturas específicas em contextos clínicos e de pesquisa. [75, 76 e 77]

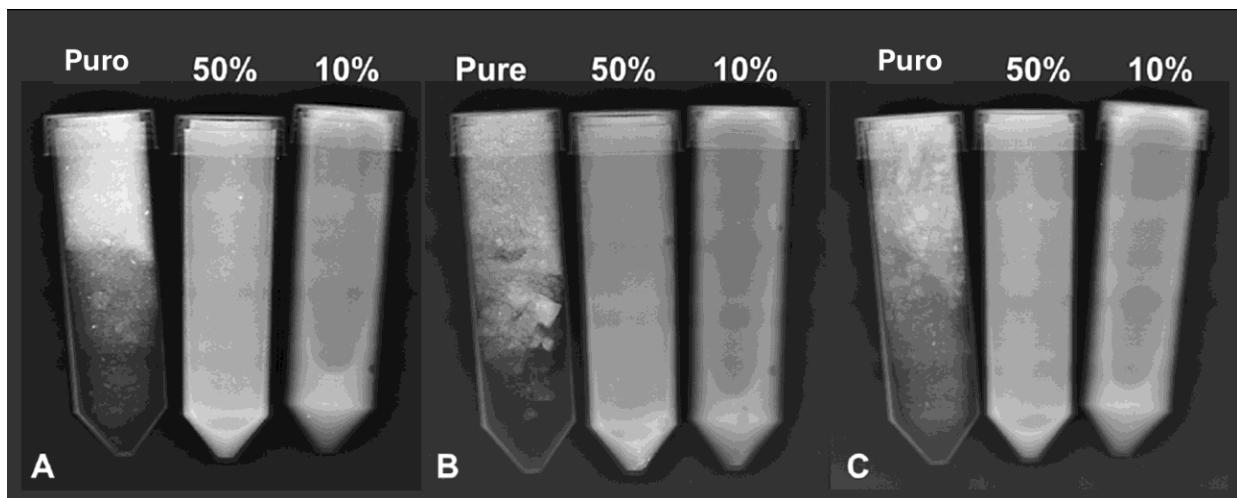


Figura 5. Imagens de raios X empregando diferentes técnicas padrão.

A imagem mostra três conjuntos de tubos em três condições experimentais (A, B e C), cada um com diferentes concentrações de pontos quânticos de grafeno (GQDs) em soluções puras (748 mg/mL), 50% de diluição (344 mg/mL) e 10% de diluição (61 mg/mL). Realizando uma análise detalhada, na imagem A os GQDs puros apresentam maior densidade e opacidade, indicando maior absorção de radiação. As diluições a

50% e 10% apresentam uma redução progressiva na opacidade, sugerindo menor concentração de material absorvente.

Já na imagem B, os GQDs puros exibem uma estrutura mais heterogênea, com áreas de maior agregação visíveis como regiões mais escuras. Onde as diluições de 50% e 10% apontam uma distribuição mais homogênea e menor contraste em relação ao tubo puro, indicando redução na capacidade de atenuação. E na imagem C, os GQDs puros demonstram maior densidade e contraste. E as diluições apresentam menor opacidade e distribuição mais uniforme do material, evidenciando o efeito da diluição na capacidade de absorção. A diferença entre as técnicas radiográficas influenciam na visualização dos GQDs, devido à opacidade radiográfica, sendo mais evidente em soluções mais concentradas.

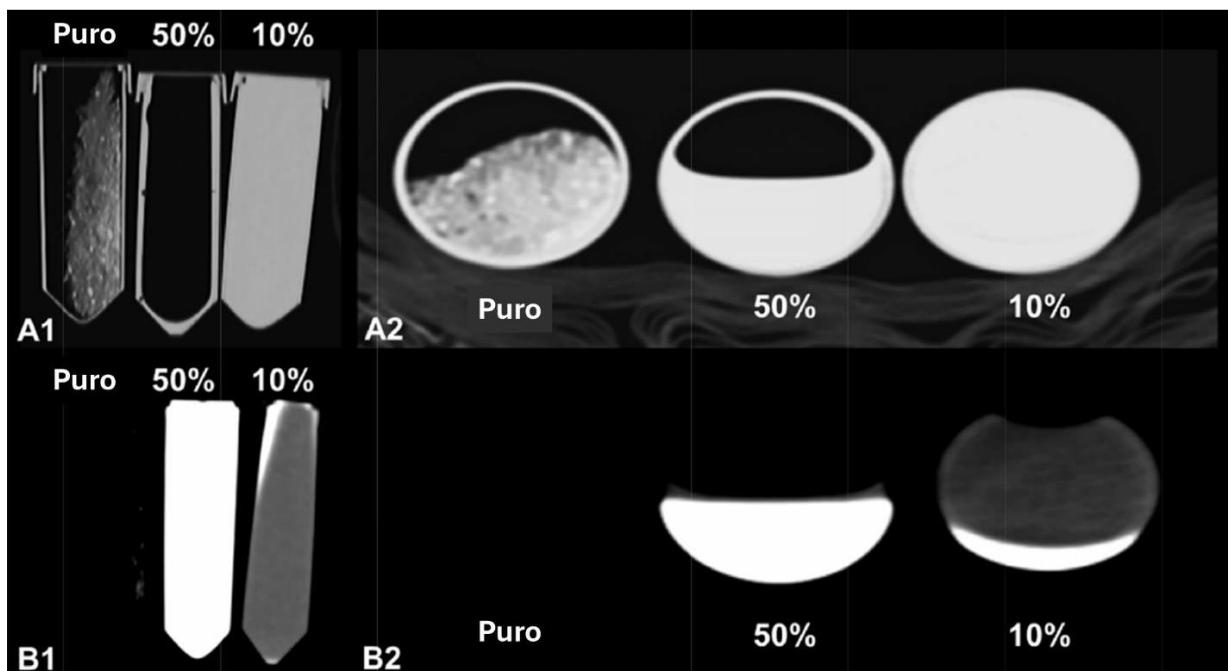


Figura 6. Imagens de tomografia computadorizada (TC) utilizando diferentes abordagens.

Na imagem A1, foi registrada uma seção coronal, enquanto na imagem A2, foi capturada uma seção axial. As imagens B1 e B2 representam aquisições axiais em depósitos espessos, abrangendo o volume total analisado. As concentrações dos pontos quânticos de grafeno (GQDs), expressas em massa por volume dos tubos

avaliados, foram de 748 mg/mL para os GQDs puros, 344 mg/mL para a diluição a 50% e 61 mg/mL para a diluição a 10%. Os coeficientes de atenuação obtidos para as diferentes concentrações testadas, incluindo GQDs em estado puro, diluições de 50% e 10%, estão detalhados na Tabela 2. Esses resultados reforçam as disposições do uso de GQDs como agentes de contraste em modalidades de imagem médica.

Tabela 2. Resultados do coeficiente de atenuação de raios X (μ), expressos em cm^{-1} , unidades Hounsfield (HU) e HU por mg/mL (HU/mM), para os GQDs puros, a 50% e a 10%.

GQDs (mg/mL)	μ (cm^{-1})	μ (HU)	μ (HU/mM)
Puro (748)	0,361	1008	1,348
50% (344)	0,225	417	1,212
10% (61)	0,179	-4,5	-0,074

4.3. ENSAIO IN VITRO

A segurança dos pontos quânticos de grafeno foi avaliada por meio do ensaio de citotoxicidade MTT em células FGH, um método amplamente utilizado para medir a viabilidade e proliferação celular. Os resultados, apresentados na Figura 13, revelaram que os GQDs não causaram alterações significativas na viabilidade celular, mesmo quando expostos a concentrações crescentes, incluindo as mais elevadas avaliadas no estudo.

Observou-se que, em todas as concentrações experimentais, as células mantiveram níveis normais de proliferação, comparáveis ao controle não tratado, o que indica que os GQDs não comprometem o metabolismo celular nem induzem morte celular em células saudáveis. Esses resultados corroboram a segurança dos GQDs para aplicação em sistemas biológicos, especialmente em contextos em que a preservação da integridade celular é crucial. Resultado expressos em número de células vivas, sem diferença estatisticamente significativa, conforme análise estatística One-way ANOVA.

5. DISCUSSÃO

A nanotecnologia associada a aplicações médicas têm ganhado inacreditável força nos últimos anos. Associado a capacidade de resolver questões atuais, como melhorar a disponibilidade de fármacos ou tornar um tratamento específico para uma doença específica, também se evidencia a sua utilização nos diagnósticos dessas mesmas doenças. Neste cenário, o grafeno se torna uma opção inovadora e promissora diante desses desafios.

Constituído de uma estrutura carbônica bidimensional, que possui alta estabilidade química, boa condutividade elétrica e térmica, além da alta resistência mecânica [107]. Dentro da família de derivados do grafeno encontra-se o pontos quânticos de grafeno (GQDs), que dispõem de propriedades físico-químicas interessantes como a fotoluminescência e propriedades biológicas, como a biocompatibilidade, sendo potencialmente estudado para aplicações biomédicas [108], como por exemplo, na aquisição de bioimagem devido a sua superioridade em resistência ao fotobranqueamento, baixo custo e abundância de matérias-primas na natureza [109,110].

Através dessas propriedades o objetivo foi avaliar a capacidade dos pontos quântico de grafeno na aquisição de imagens por meio da tomografia computadorizada e dos raios-x convencional. Para tal, sintetizamos o GQD por via eletroquímica, de modo sustentável. Nossos resultados de caracterização na figura 9 mostra a morfologia e tamanho dos GQDs de 160-280 nm por AFM. Esse resultado é confirmado por DLS, onde o tamanho descrito foi de 167,3 nm. Embora a literatura relate que o diâmetro dos GQDs seja <100 nm [110], Yao e colaboradores apontaram que partículas de sílica associado ao GQD em torno de 100 nm possuem uma eficácia em células de câncer de mama.

Futuramente, os espectros Raman foram avaliados na figura 10, onde observa-se a presença de bandas G e D. A banda G ($\sim 1580 \text{ cm}^{-1}$) representa a flexão no plano de átomos de carbono duplamente ligados, sendo nítida em grafeno de alta qualidade, indicando elevada cristalinidade. Já a banda D reflete desordens ou defeitos no grafeno representa um modo de respiração de anéis de carbono sp₂. [112,113].

Essas características são determinantes na identificação e caracterização do grafeno durante o processo de síntese [114]. Além disso, a composição do material foi avaliada por difração de raios-X, revelando picos característicos atribuídos ao hidrogênio citrato dissódico desidratado. O ácido cítrico, utilizado como precursor e fonte de carbono, desempenha um papel crucial na formação dos GQDs, atuando como uma base fraca para a geração do material. Além disso, sua estrutura rica em grupos funcionais - COOH contribui para a estabilização química dos GQDs, favorecendo a uniformidade e a funcionalidade do nanomaterial [115,116]. No que diz respeito aos raios X convencionais, são um tipo de radiação eletromagnética gerada após a ejeção de um elétron da orbital interna e a consequente transição dos elétrons nas orbitais atômicas de estados de alta para baixa energia [117]. Ao contrário da radiografia convencional baseada em raios X, a tomografia computadorizada reconstrói imagens anatômicas transversais das estruturas internas de acordo com coeficientes de atenuação dos raios X [118]. A elevada densidade dos GQDs ($\rho = 1,45 \text{ g/cm}^3$) pode atenuar os raios X em ambas as modalidades [119,120]. A TC baseia suas medidas na absorção de raios X, distinguindo os tecidos com base em graus distintos de atenuação dos raios X, em que o coeficiente de atenuação depende do número atômico e da densidade eletrônica dos tecidos.

Wang et al. [121] referiram que, devido à estabilidade coloidal e biocompatibilidade dos GQDs, especialmente em água, o nanocompósito $\text{Gd}_2\text{O}_3/\text{GQDs}$ apresentou propriedades ópticas com relaxividade em ressonância magnética ($15,995 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$), comprovando que o $\text{Gd}_2\text{O}_3/\text{GQDs}$ pode atuar como agente de contraste para ressonância magnética. Além disso, os GQDs possuem uma grande quantidade de grupos carboxila negativamente carregados e ligações $\pi-\pi$ conjugadas, conferindo propriedades eletrostáticas adequadas para diversas aplicações [122,123].

Também considera-se que os pontos quânticos de grafeno são nanomateriais ricos em carbono de dimensão zero, com uma estrutura em forma de favo de mel de hibridização sp^2 . Eles podem ser considerados nanomateriais densos em elétrons. Consequentemente, sua densidade eletrônica (também deslocalizada em confinamento quântico) pode ser a causa das imagens de raios X e TC, observadas

neste trabalho. No entanto, o coeficiente de atenuação de raios X das nossas amostras (GQDs puros, 50% e 10%) apresentaram valores consideravelmente menores (1,348, 1,212 e -0,074 HU/mM) em comparação com as nanopartículas de bismuto revestidas com pontos quânticos de grafeno (GQDs-Fe/Bi; 44,4 HU/mM) previamente relatadas por Badrigilan et al. [102]. Os autores utilizaram uma concentração de 1 mg/mL de GQDs-Fe/Bi, que resultou em uma atenuação de raios X de 120 HU.

Nos casos de 1 mg de Bi/mL em nanopartículas de bismuto revestidas com pontos quânticos de grafeno apresentou uma atenuação de 80 HU nos raios X [101]. De acordo com nossos resultados observados nas figuras 11 e 12, é necessário utilizar concentrações muito altas de GQDs, como 748 e 344 mg/mL, para alcançar uma maior atenuação de raios X (1008 e 417 HU). Apesar disso, nosso resultado com a concentração de 61 mg/mL de GQDs exibiu um valor negativo de unidades Hounsfield (-4,5 HU), indicando uma amostra menos densa com menor absorção do feixe de raios X [124]. Portanto, o uso de pontos quânticos de grafeno como agentes de contraste pode expandir as aplicações da imagem médica bimodal, combinando técnicas convencionais de raios X e tomografia computadorizada (TC). No entanto, os agentes de contraste baseados em GQDs requerem concentrações mássicas excepcionalmente altas para exibir uma elevada atenuação de raios X.

Os dados relativos à segurança dos pontos quânticos de grafeno (GQDs) revelaram resultados promissores. Nos ensaios *in vitro*, verificou-se que os GQDs não induzem toxicidade nas concentrações avaliadas para células FGH, conforme apresentado na Figura 13. Esses achados estão alinhados com o trabalho de Liang et al. [125], que também destacaram a elevada biocompatibilidade dos GQDs, evidenciando sua segurança para aplicações biológicas.

Fasbender et al. [126] investigaram os efeitos dos GQDs no transcriptoma de células progenitoras hematopoéticas CD34+, demonstrando que, mesmo após 36 horas de incubação, não houve alterações significativas nos perfis de expressão gênica. Esses resultados indicam que os GQDs exercem influência mínima sobre processos celulares fundamentais, o que é crucial para sua aplicação em estudos *in vivo*. Hadad et al. [127] reforçaram ainda mais a segurança dos GQDs ao avaliar sua biodistribuição e eliminação no organismo. Seus experimentos demonstraram que os

GQDs não causam danos renais durante o processo de depuração, destacando sua adequação para aplicações terapêuticas e diagnósticas que envolvam administração sistêmica. Assim, o conjunto desses estudos valida a segurança e o potencial dos GQDs em aplicações biomédicas avançadas.

6. CONCLUSÃO

A presente pesquisa investigou a aplicação dos pontos quânticos de grafeno (GQDs) como agentes de contraste em modalidades de imagem médica, além de avaliar sua segurança em células FGH. Os resultados obtidos, tanto pelas análises de microscopia de força atômica (AFM), espalhamento de luz dinâmico (DLS), espectroscopia Raman, difração de raios-X (XRD) quanto pelas imagens de TC e raios X, corroboram o potencial dos GQDs para serem utilizados como ferramenta inovadora na área biomédica.

A análise AFM revelou a presença de GQDs imersos na mica com um diâmetro médio entre 160 e 280 nm e altura média de 5 nm, dados que foram confirmados pelo espalhamento de luz dinâmico (DLS). As espectroscopias Raman e XRD proporcionaram evidências adicionais da estrutura dos GQDs, com a identificação das bandas características D e G, relacionadas a defeitos e vibrações C-C, e a presença de citrato, utilizado durante sua síntese.

No que se refere às imagens de raios X e tomografia computadorizada, os GQDs demonstraram ser eficazes como agentes de contraste, exibindo uma capacidade de atenuação proporcional ao aumento de sua concentração. As imagens de TC e raios X corroboraram a hipótese de que a elevação da concentração de GQDs está diretamente associada ao aumento da capacidade de atenuação, com coeficientes de atenuação obtidos para as concentrações de GQDs puros, 50% e 10% apresentando resultados significativos, como detalhado na Tabela 1. Ao mesmo tempo, a avaliação da segurança dos GQDs por meio do ensaio de citotoxicidade MTT em células FGH indicou que, mesmo em concentrações elevadas, os GQDs não afetaram a proliferação celular, sugerindo sua biocompatibilidade e segurança para uso em aplicações médicas.

Portanto, os resultados obtidos demonstram que os pontos quânticos de grafeno têm grande potencial como agentes de contraste para imagens médicas em tomografia computadorizada e raios X, com vantagens adicionais de segurança, sem efeitos tóxicos detectáveis nas concentrações avaliadas. Essas propriedades abrem possibilidades para o uso expandido dos GQDs no campo da medicina, especialmente para diagnóstico por imagem, bem como em outras áreas da nanotecnologia e biomateriais.

REFERÊNCIAS

- [1] National Institute of Biomedical imaging and Bioengineering. (2022, June). Computed Tomography (CT). Nih.gov; *National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering*. <https://www.nibib.nih.gov/science-education/science-topics/computed-tomography-ct>
- [2] John Hopkins Medicine. (2023). Computed Tomography (CT) Scan. *John Hopkins Medicine*. <https://www.hopkinsmedicine.org/health/treatment-tests-and-therapies/computed-tomography-ct-scan>
- [3] Pär Kragsterman. (2024, November 2). Number of CT Scans Per Year Worldwide: Overview of global Computer Tomography utilization. Cmrad.com. <https://about.cmrad.com/articles/number-of-ct-scans-per-year-worldwide-overview-of-global-computer-tomography-utilization>
- [4] Computer tomography scanners density by country 2017. (n.d.). *Statista*. <https://www.statista.com/statistics/266539/distribution-of-equipment-for-computer-tomography/>
- [5] Alonso, T. C., Carla, V., Vieira, L. A., Arnaldo Prata Mourão, & Silva. (2020). Computer Tomography Scanners in Brazil (2010-2017). *Brazilian Journal of Radiation Sciences*, 8(1). <https://doi.org/10.15392/bjrs.v8i1.1027>
- [6] Camila, Cláudino, D., Batista, A., Goes, M., Cristina, R., Maria, & Carolina Freitas Lins. (2024). Tomografia computadorizada e ressonância magnética no Brasil: estudo epidemiológico sobre distribuição dos equipamentos, frequência de realização dos exames e comparação entre setores público e privado. *Radiologia Brasileira*, 57. <https://doi.org/10.1590/0100-3984.2023.0094>
- [7] Fröman, N. (2018). Marie and Pierre Curie and the discovery of polonium and radium. *NobelPrize.org*. <https://www.nobelprize.org/prizes/themes/marie-and-pierre-curie-and-the-discovery-of-polonium-and-radium/>
- [8] Tubiana M. (1996). Wilhelm Conrad Röntgen et la découverte des rayons X [Wilhelm Conrad Röntgen and the discovery of X-rays]. *Bulletin de l'Academie nationale de médecine*, 180(1), 97–108.
- [9] Chodos, A. (2001, November 1). *Physics History November 2001*. [Www.aps.org](https://www.aps.org/apsnews/2001/11/roentgen-discovery-x-rays). <https://www.aps.org/apsnews/2001/11/roentgen-discovery-x-rays>
- [10] Enoch, N. (2018, December 29). Roentgen's first human X-ray of his wife's hand in 1895. *Mail Online; Daily Mail*. <https://www.dailymail.co.uk/news/article-6491287/Roentgens-human-X-ray-wifes-hand-1895.html>
- [11] Deffree, S. (2019, January 18). X-ray machine is formally displayed, January 18, 1896. *EDN*. <https://www.edn.com/x-ray-machine-is-formally-displayed-january-18-1896/>
- [12] Press, A. (2020, January 18). Today in History, January 18, 1896: X-ray machine was first demonstrated. *The Enquirer; Cincinnati Enquirer*. <https://www.cincinnati.com/story/news/2020/01/18/today-history-january-18-x-ray-machine-first-demonstrated/4487213002/>

- [13] Tretkoff, E. (2008, February 25). Physics History March 2008. [Www.aps.org](http://www.aps.org/apsnews/2008/02/becquerel-discovers-radioactivity).
<https://www.aps.org/apsnews/2008/02/becquerel-discovers-radioactivity>
- [14] Badash, L. (2018). Henri Becquerel. In *Encyclopædia Britannica*.
<https://www.britannica.com/biography/Henri-Becquerel>
- [15] Kaku, M. (2019). Albert Einstein – From graduation to the “miracle year” of scientific theories. In *Encyclopædia Britannica*.
<https://www.britannica.com/biography/Albert-Einstein/From-graduation-to-the-miracle-year-of-scientific-theories>
- [16] Tafti, D., & Maani, C. V. (2023). X-ray Production. In StatPearls. *StatPearls Publishing*.
- [17] Breitkreutz, D. Y., Weil, M. D., & Bazalova-Carter, M. (2020). External beam radiation therapy with kilovoltage x-rays. *Physica Medica*, 79(79), 103–112.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmp.2020.11.001>
- [18] Themes, U. F. O. (2021, May 16). X-ray Production, Tubes, and Generators. Radiology Key. <https://radiologykey.com/x-ray-production-tubes-and-generators/>
- [19] Conti, C. C., Anjos, M. J., & Salgado, C. M. (2017). Improved Rayleigh to Compton scattering ratio curves for mass attenuation coefficients determination for X-ray fluorescence analysis. *X-Ray Spectrometry*, 46(6), 522–528.
<https://doi.org/10.1002/xrs.2790>
- [20] Bushberg J. T. (1998). The AAPM/RSNA physics tutorial for residents. X-ray interactions. *Radiographics: a review publication of the Radiological Society of North America, Inc*, 18(2), 457–468.
<https://doi.org/10.1148/radiographics.18.2.9536489>
- [21] Li, T., Dresselhaus, JL, Ivanov, N. et al. Microscopia de raios-X Compton de varredura dose-eficiente. *Light Sci Appl* 12, 130 (2023).
<https://doi.org/10.1038/s41377-023-01176-5>
- [22] Berger, M., Yang, Q., & Maier, A. (2018). X-ray Imaging. *PubMed; Springer*.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK546155/>
- [23] White, S. C., & Pharoah, M. J. (Eds.). (2014, January 1). Chapter 1. *Physics. Science Direct; Mosby*.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/piiB9780323096331000018>
- [24] Lyu, Q., Neph, R. & Sheng, K. Tomographic detection of photon pairs produced from high-energy X-rays for the monitoring of radiotherapy dosing. *Nat. Biomed. Eng* 7, 323–334 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41551-022-00953-8>
- [25] Nguyen, M. K., Truong, T. T., Driol, C., & Zaidi, H. (2009). On a Novel Approach to Compton Scattered Emission Imaging. *IEEE Transactions on Nuclear Science*, 56(3), 1430–1437. <https://doi.org/10.1109/tns.2009.2018106>
- [26] Martin C. (2007). The importance of radiation quality for optimisation in radiology. *Biomedical imaging and intervention journal*, 3(2), e38.
<https://doi.org/10.2349/bijj.3.2.e38>

- [27] Fernández, J. E. (1992). Rayleigh and compton scattering contributions to x-ray fluorescence intensity. *X-Ray Spectrometry*, 21(2), 57–68. <https://doi.org/10.1002/xrs.1300210204>.
- [28] Magee, P. T. (2012, January 1). Chapter 15 - Physiological monitoring: Gasses (A. J. Davey & A. Diba, Eds.). ScienceDirect; Elsevier. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780702030949000152>
- [29] Soga, D., Faes, D. M., & Muramatsu, M. (2018). Looking to the blue sky with colored patterns. *Revista Brasileira de Ensino de Física*, 41(1). <https://doi.org/10.1590/1806-9126-rbef-2017-0338>
- [30] X-Ray Imaging Conventional. (n.d.). Retrieved December 23, 2024, from https://www.myesr.org/app/uploads/2024/11/ESR_ModernRadiology_eBook_Chapter_15.pdf
- [31] Poludniowski, G., Evans, P. M., & Webb, S. (2009). Rayleigh scatter in kilovoltage x-ray imaging: is the independent atom approximation good enough?. *Physics in medicine and biology*, 54(22), 6931–6942. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/54/22/012>
- [32] Ardiansyah, A., Heryanto, H., Armynah, B., Salah, H., Sulieman, A., Bradley, D. A., & Tahir, D. (2023). Physical, mechanical, optical, and gamma radiation shielding properties of the BaO-based glass system prepared by the melt- quench technique: A review. *Radiation Physics and Chemistry*, 210, 111059. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2023.11105>
- [33] Ilya Obodovskiy. (2019). Interaction of Gamma Quanta With Matter. Elsevier EBooks, 137–150. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-63979-0.00006-9>
- [34] Seibert, J. A., & Boone, J. M. (2005). X-Ray Imaging Physics for Nuclear Medicine Technologists. Part 2: X-Ray Interactions and Image Formation. *Journal of Nuclear Medicine Technology*, 33(1), 3–18. <https://tech.snmjournals.org/content/33/1/3>
- [35] Yu, H., Chen, X., Zhou, Y., Chen, D., & Zhang, L. (2020). Impact of photoelectric effect on X-ray density logging and its correction. Applied radiation and isotopes: including data, instrumentation and methods for use in agriculture, industry and medicine, 156, 108785. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2019.06.031>
- [36] Buchtela, K. (2019, January 1). RADIOCHEMICAL METHODS|Gamma-Ray Spectrometry☆ (P. Worsfold, C. Poole, A. Townshend, & M. Miró, Eds.). ScienceDirect; Academic Press. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780124095472113332>
- [37] Stacy, J. G., & Vestrand, W. T. (2003, January 1). Gamma-Ray Astronomy (R.A. Meyers, Ed. ScienceDirect; Academic Press. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B012227410500274X>
- [38] Gerrish, V. M. (1995). Chapter 13 Characterization and Quantification of Detector Performance. *Semiconductors and Semimetals*, 493–530. [https://doi.org/10.1016/s0080-8784\(08\)62752-0](https://doi.org/10.1016/s0080-8784(08)62752-0)

- [39] Penner-Hahn, J. E. (2019). X-Ray Absorption Spectroscopy (pp. 404–419). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.14481-6>
- [40] Lyu, Q., Neph, R., & Sheng, K. (2023). Tomographic detection of photon pairs produced from high-energy X-rays for the monitoring of radiotherapy dosing. *Naturebiomedical engineering*, 7(3), 323–334. <https://doi.org/10.1038/s41551-022-00953-8>
- [41] Blum, A., P. Gondim-Teixeira, Erwan Gabiache, Roche, O., François Sirveaux, Olivier, P., Coudane, H., Raymond, A., Louis, M., M Grandhaye, Meyer, J.-B., Mainard, D., & Molé, D. (2016). Developments in imaging methods used in hip arthroplasty: A diagnostic algorithm. 97(7-8), 735–747. <https://doi.org/10.1016/j.diii.2016.07.001>
- [42] Fernandes, R. S., dos Santos Ferreira, D., de Aguiar Ferreira, C., Giammarile, F., Rubello, D., & de Barros, A. L. B. (2016). Development of imaging probes for bone cancer in animal models. A systematic review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 83, 1253–1264.
- [43] Leahy, R. M., R. Clackdoyle, & Frédéric Noo. (2009). Computed Tomography. Elsevier EBooks, 741–776. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-374457-9.00026-3>
- [44] Equipment | IAEA. (2021, January 23). <https://www.iaea.org/resources/hhc/medical-physics/radiology/equipment>
- [45] Leahy, R. M., R. Clackdoyle, & Frédéric Noo. (2009). Computed Tomography. Elsevier EBooks, 741–776. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-374457-9.00026-3>
- [46] Fayad, L. M. (2024). CT Scan Versus MRI Versus X-Ray: What Type of Imaging Do I Need? *Johns Hopkins Medicine*. <https://www.hopkinsmedicine.org/health/treatment-tests-and-therapies/ct-vs-mri-vs-xray>
- [47] <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/computerized-tomography>. (2011, February 2). [Www.cancer.gov](https://www.cancer.gov). <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/computerized-tomography>
- [48] Owens, T. C., Anton, N., & Attia, M. F. (2023). CT and X-ray contrast agents: Current clinical challenges and the future of contrast. *Acta Biomaterialia*, 171, 19–36. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2023.09.027>
- [49] Center for Devices and Radiological Health. (2019, June 14). Computed Tomography (CT). U.S. Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/radiation-emitting-products/medical-x-ray-imaging/computed-tomography-ct>
- [50] E. Scott Pretorius. (2011). Introduction to Ultrasound, CT, and MRI. Elsevier EBooks, 13–18. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-06794-2.00002-x>
- [51] Bibb, R., Eggbeer, D., & Paterson, A. (2015, January 1). 2 - Medical imaging (R. Bibb, D. Eggbeer, & A. Paterson, Eds.). ScienceDirect; Woodhead Publishing. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9781782423003000020>

- [52] Krause W. (1999). Delivery of diagnostic agents in computed tomography. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 37(1-3), 159–173. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(98\)00105-7](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(98)00105-7)
- [53] Lusic, H., & Grinstaff, M. W. (2013). X-ray-computed tomography contrast agents. *Chemical reviews*, 113(3), 1641–1666. <https://doi.org/10.1021/cr200358s>
- [54] Owens, T. C., Anton, N., & Attia, M. F. (2023). CT and X-ray contrast agents: Current clinical challenges and the future of contrast. *Acta Biomaterialia*, 171, 19–36. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2023.09.027>
- [55] Rodriguez Burbano, D. C., Naccache, R., & Capobianco, J. A. (2015). Near-IR Triggered Photon Upconversion: *Imaging, Detection, and Therapy* (Vol. 47, pp. 273–347). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63481-8.00273-6>
- [56] Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M., & Rizzolio, F. (2019). The History of Nanoscience and Nanotechnology: From *Chemical-Physical Applications to Nanomedicine*. *Molecules* (Basel, Switzerland), 25(1), 112. <https://doi.org/10.3390/molecules25010112>
- [57] Lamberti, C. (2008). Introduction: the interdisciplinary nature of nanotechnology and its need to exploit frontier characterization techniques. *Elsevier EBooks*, 1–15. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-53099-8.00001-4>
- [58] Ankathil, R., Nair, V. S., Ravindran, A., & Ravindran, R. (2017). Conspectus on Nanotechnology in Oral Cancer Diagnosis and Treatment (pp. 31–49). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-52725-5.00003-4>
- [59] Singh, A., & Amiji, M. M. (2022). Application of nanotechnology in medical diagnosis and imaging. *Current Opinion in Biotechnology*, 74, 241–246. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.12.011>
- [60] Sarkar, S., & Ahuja, S. (2022). Importance of nanomaterials in water purification. *Separation Science and Technology*, 13–36. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-90763-7.00002-0>
- [61] Bawoke Mekuye, & Abera, B. (2023). Nanomaterials: An overview of synthesis, classification, characterization, and applications. *Nano Select*, 4(8). <https://doi.org/10.1002/nano.202300038>
- [62] Raut, S. S., Singh, R., & Lekhak, U. M. (2024). Naturally occurring nanoparticles (NONPs): A review. *Next Sustainability*, 3, 100037–100037. <https://doi.org/10.1016/j.nxsust.2024.100037>
- [63] Ghaemi, F., Luqman Chuah Abdullah, & Paridah Md Tahir. (2017). Natural and synthetics nanomaterials: comparative study on their mechanical and thermal properties as nanofiller in polymer composite. *Journal of Physics Conference Series*, 914, 012014–012014. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/914/1/012014>
- [64] H. Alshammari, B., A. Lashin, M. M., Adil Mahmood, M., S. Al-Mubaddel, F., Ilyas, N., Rahman, N., Sohail, M., Khan, A., Shukhratovich Abdullaev, S., & Khan, R. (2023). Organic and inorganic nanomaterials: fabrication, properties and

- applications. *RSC. Advances*, 13(20), 13735–13785.
<https://doi.org/10.1039/D3RA01421E>
- [65] Paul, W., & Sharma, C. P. (2010). Inorganic nanoparticles for targeted drug delivery. *Biointegration of Medical Implant Materials*, 204–235.
<https://doi.org/10.1533/9781845699802.2.204>
- [66] Joudeh, N., & Linke, D. (2022). Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists. *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01477-8>
- [67] Murr, L. E. (2015). Classifications and Structures of Nanomaterials. *Handbook of Materials Structures, Properties, Processing and Performance*, 719–746.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-01815-7_45
- [68] Asha, A. B., & Narain, R. (2020). Nanomaterials properties. *Polymer Science and Nanotechnology*, 343–359. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816806-6.00015-7>
- [69] Lin, J., Miao, L., Zhong, G. et al. Understanding the synergistic effect of physicochemical properties of nanoparticles and their cellular entry pathways. *Commun Biol* 3, 205 (2020). <https://doi.org/10.1038/s42003-020-0917-1>
- [70] Han, X., , Xu, K., , Taratula, O., , & Farsad, K., (2019). Applications of nanoparticles in biomedical imaging. *Nanoscale*, 11(3), 799–819.
<https://doi.org/10.1039/c8nr07769j>
- [71] Dong, Y. C., Hajfathalian, M., Maidment, P. S. N., Hsu, J. C., Naha, P. C., Si-Mohamed, S., Breuilly, M., Kim, J., Chhour, P., Douek, P., Litt, H. I., & Cormode, D. P. (2019). Effect of Gold Nanoparticle Size on Their Properties as Contrast Agents for Computed Tomography. *Scientific Reports*, 9(1), 14912.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-50332-8>
- [72] Gupta, D., Roy, I., & Gandhi, S. (2023). Metallic nanoparticles for CT-guided imaging of tumors and their therapeutic applications. *OpenNano*, 12, 100146.
<https://doi.org/10.1016/j.onano.2023.100146>
- [73] García, A., Cámaras, J. A., Boullosa, A. M., Gustà, M. F., Mondragón, L., Schwartz, S., Casals, E., Abasolo, I., Bastús, N. G., & Víctor Puntes. (2023). NanoceriaasSafeContrastAgentsforX-rayCT Imaging. *Nanomaterials*, 13(15), 2208–2208. <https://doi.org/10.3390/nano13152208>
- [74] Smith, C. T. G., Mills, C. A., Pani, S., Rhodes, R., Bailey, J. J., Cooper, S. J., Pathan, T. S., Stolojan, V., Brett, D. J. L., Shearing, P. R., & Silva, S. R. P. (2019). X-ray micro-computed tomography as a non-destructive tool for imaging the uptake of metal nanoparticles by graphene-based 3D carbon structures. *Nanoscale*, 11(31), 14734–14741. <https://doi.org/10.1039/c9nr03056e>
- [75] Wanas, W., Abd El-Kaream, S.A., Ebrahim, S. et al. Cancer bioimaging using dual mode luminescence of graphene/FA-ZnO nanocomposite based on novel green technique. *Sci Rep* 13, 27 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-27111-z>

- [76] Lin, J., Huang, Y., & Huang, P. (2018). Graphene-Based Nanomaterials in Bioimaging. *Biomedical Applications of Functionalized Nanomaterials*, 247–287. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-50878-0.00009-4>
- [77] Loh, K. P., Bao, Q., Eda, G., & Chhowalla, M. (2010). Graphene oxide as a chemically tunable platform for optical applications. *Nature chemistry*, 2(12), 1015–1024. <https://doi.org/10.1038/nchem.907>
- [78] Lin, J., Chen, X., & Huang, P. (2016). Graphene-based nanomaterials for bioimaging. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 105, 242–254. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.05.013>
- [79] K.S. Novoselov, Blake, P., & Katsnelson, M. I. (2008). Graphene: Electronic Properties. *Elsevier EBooks*, 1–6. <https://doi.org/10.1016/b978-008043152-9.02191-6>
- [80] Murni Handayani, Hendrik, N., Abbas, A., Anshori, I., Rahmat Mulyawan, Ardianto Satriawan, Wervyan Shalannanda, Casi Setianingsih, Tiara, C., Qurriyatus Zahro, Sekar, C., Setiawan, I., Khusnul Khotimah, Gagus Ketut Sunnardianto, & Yosephin Dewiani Rahmayanti. (2023). Development of graphene and graphene quantum dots toward biomedical engineering applications: A review. *Nanotechnology Reviews*, 12(1). <https://doi.org/10.1515/ntrev-2023-0168>
- [81] Kogan, E., & Silkin, V. M. (2020). Symmetry of Electron Bands in Graphene: (Nearly) Free Electron Versus Tight-Binding. *Physica Status Solidi (B)*, 258(3). <https://doi.org/10.1002/pssb.202000504>
- [82] Kakaei, K., Esrafilii, M. D., & Ehsani, A. (2019). Atomic Properties and Electronic Structure. *Interface Science and Technology*, 23–66. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814523-4.00002-2>
- [83] López-DíazD., Merchán, D., & M. Mercedes Velázquez. (2020). The behavior of graphene oxide trapped at the air water interface. *Advances in Colloid and Interface Science*, 286, 102312–102312. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102312>
- [84] Otsuka, H., Urita, K., Honma, N. et al. Transient chemical and structural changes in graphene oxide during ripening. *Nat Commun* 15, 1708 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41467-024-46083-4>
- [85] Jain, S., Raza, K., Agrawal, A. K., & Vaidya, A. (2020). Application of cancer stem cells in improving therapeutics. *Elsevier EBooks*, 307–339. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817846-1.00015-1>
- [86] Esmaeili, Y., Bidram, E., Zarrabi, A., Amini, A., & Cheng, C. (2020). Graphene oxide and its derivatives as promising In-vitro bio-imaging platforms. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75090-w>
- [87] Pandey, A., & Chauhan, P. (2023). Functionalized graphene nanomaterials: Next-generation nanomedicine. *Elsevier EBooks*, 3–18. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-824366-4.00020-0>
- [88] Liu, Z., Navik, R., Tan, H., Xiang, Q., Wahyudiono, Goto, M., Ibarra, R. M., & Zhao, Y. (2022). Graphene-based materials prepared by supercritical fluid technology

- and its application in energy storage. *The Journal of Supercritical Fluids*, 188, 105672. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2022.105672>
- [89] Trivedi, D. N., & Rachchh, N. V. (2022). Graphene and its application in thermoplastic polymers as nano-filler- A review. *Polymer*, 240, 124486. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2021.124486>
- [90] Santra, S., Bose, A., Mitra, K., & Adalder, A. (2024). Exploring two decades of graphene: The jack of all trades. *Applied Materials Today*, 36, 102066. <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2024.102066>
- [91] Bellier, N., Baipaywad, P., Ryu, N., Lee, J. Y., & Park, H. (2022). Recent biomedical advancements in graphene oxide- and reduced graphene oxide- based nanocomposite nanocarriers. *Biomaterials Research*, 26(1). <https://doi.org/10.1186/s40824-022-00313-2>
- [92] Do Won Hwang, Byung Hee Hong, & Dong Soo Lee. (2017). Multifunctional graphene oxide for bioimaging: emphasis on biological research. *European Journal of Nanomedicine*, 9(2). <https://doi.org/10.1515/ejnm-2016-0036>
- [93] Pashazadeh-Panahi, P., & Hasanzadeh, M. (2019). Revolution in biomedicine using emerging of picomaterials: A breakthrough on the future of medical diagnosis and therapy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 120, 109484. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109484>
- [94] de Menezes, F. D., Dos Reis, S. R. R., Pinto, S. R., Portilho, F. L., do Vale Chaves E Mello, F., Helal-Neto, E., da Silva de Barros, A. O., Alencar, L. M. R., de Menezes, A. S., Dos Santos, C. C., Saraiva-Souza, A., Perini, J. A., Machado, D. E., Felzenswalb, I., Araujo-Lima, C. F., Sukhanova, A., Nabiev, I., & Santos-Oliveira, R. (2019). Graphene quantum dots unraveling: Green synthesis, characterization, radiolabeling with ^{99m}Tc , in vivo behavior and mutagenicity. *Materials Science & Engineering. C, Materials for biological applications*, 102, 405–414. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.04.058>
- [95] Lin, J., Huang, Y., & Huang, P. (2018). Graphene-Based Nanomaterials in Bioimaging. *Biomedical Applications of Functionalized Nanomaterials*, 247–287. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-50878-0.00009-4>
- [96] Wang, D., Chen, J.-F., & Dai, L. (2014). Recent Advances in Graphene Quantum Dots for Fluorescence Bioimaging from Cells through Tissues to Animals. *Particle & Particle Systems Characterization*, 32(5), 515–523. <https://doi.org/10.1002/ppsc.201400219>
- [97] Osorio, H. M., Fabián Castillo-Solís, Barragán, S. Y., Rodríguez-Pólit, C., & Gonzalez-Pastor, R. (2024). Graphene Quantum Dots from Natural Carbon Sources for Drug and Gene Delivery in Cancer Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(19), 10539–10539. <https://doi.org/10.3390/ijms251910539>
- [98] Magne, T. M., de Oliveira Vieira, T., Alencar, L. M. R., Junior, F. F. M., Gemini-Piperni, S., Carneiro, S. V., Fechine, L. M. U. D., Freire, R. M., Golokhvast, K., Metrangolo, P., Fechine, P. B. A., & Santos-Oliveira, R. (2021). Graphene and its derivatives: understanding the main chemical and medicinal chemistry roles for

biomedical applications. *Journal of Nanostructure in Chemistry*. <https://doi.org/10.1007/s40097-021-00444-3>

[99] Chung, S., Revia, R. A., & Zhang, M. (2021). Graphene Quantum Dots and Their Applications in Bioimaging, Biosensing, and Therapy. *Advanced materials (Deerfield Beach, Fla.)*, 33(22), e1904362. <https://doi.org/10.1002/adma.201904362>

[100] Zhu, S., Song, Y., Wang, J., Wan, H., Zhang, Y., Ning, Y., & Yang, B. (2017). Photoluminescence mechanism in graphene quantum dots: Quantum confinement effect and surface/edge state. *Nano Today*, 13, 10–14. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2016.12.006>

[101] Samireh Badrigilan, Behrouz Shaabani, Nahideh Ghareh Aghaji, & Asghar Mesbahi. (2018). Graphene Quantum Dots-Coated Bismuth Nanoparticles for Improved CT Imaging and Photothermal Performance. *International Journal of Nanoscience*, 19(01), 1850043–1850043. <https://doi.org/10.1142/s0219581x18500436>

[102] Badrigilan, S., Shaabani, B., Gharehaghaji, N., & Mesbahi, A. (2019). Iron oxide/bismuth oxide nanocomposites coated by graphene quantum dots: “Three-in-one” theranostic agents for simultaneous CT/MR imaging-guided invitro photothermal therapy. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 25, 504–514. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2018.10.021>

[103] Bi, H., He, F., Dong, Y., Yang, D., Dai, Y., Xu, L., Ruichan Lv, Gai, S., Yang, P., & Lin, J. (2018). Bismuth Nanoparticles with “Light” Property Served as a Multifunctional Probe for X-ray Computed Tomography and Fluorescence Imaging. *Chemistry of Materials*, 30(10), 3301–3307. <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.8b00565>

[104] Shi, J., Wang, L., Zhang, J., Ma, R., Gao, J., Liu, Y., Zhang, C., & Zhang, Z. (2014). A tumor-targeting near-infrared laser-triggered drug delivery system based on GO@Ag nanoparticles for chemo-photothermal therapy and X-ray imaging. *Biomaterials*, 35(22), 5847–5861. <https://doi.org/10.1016/j.Biomaterials.2014.03.042>

[105] Frederico, Rhaissa, S., Suyene Rocha Pinto, Filipe Leal Portilho, Francisco, Helal-Neto, E., Oliveira, A., Magalhães, L., Silva, A., Santos, Aldilene Saraiva- Souza, Jamila Alessandra Perini, Daniel Escorsim Machado, Felzenswalb, I., Carlos Fernando Araujo-Lima, Alyona Sukhanova, Igor Nabiev, & Santos- Oliveira, R. (2019). Graphene quantum dots unraveling: Green synthesis, characterization, radiolabeling with 99mTc, in vivo behavior and mutagenicity. *Materials Science & Engineering. C, Biomimetic Materials, Sensors and Systems*, 102, 405–414. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.04.058> D

[106] Barros, A. O. D. S., Ricci-Junior, E., Pereira, J. X., Pikula, K., Golokhvast, K., Manahães, A. C., Souza, P. F. N., Alencar, L. M. R., Bouskela, E., & Santos- Oliveira, R. (2022). High doses of graphene quantum dots impacts on microcirculation system: An observational study. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*. V, 176, 180–187. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2022.05.013>

[107] Bharathi, G., Nataraj, D., Premkumar, S., Sowmiya, M., Senthilkumar, K., Thangadurai, T. D., Khyzhun, O. Y., Gupta, M., Phase, D., Patra, N., Jha, S. N., &

- Bhattacharyya, D. (2017). Graphene Quantum Dot Solid Sheets: Strong blue- light-emitting & photocurrent-producing band-gap-opened nanostructures. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017- 10534-4>
- [108] Munawar, A., Sadia Zafar Bajwa, & Khan, W. S. (2020). Carbon-based nanosensors: An efficient tool for use in the food industry and agricultural and environmental sectors. *Elsevier EBooks*, 217–236. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819786-8.00011-6>
- [109] Biswas, M. C., Islam, M. T., Nandy, P. K., & Hossain, M. M. (2021). Graphene Quantum Dots (GQDs) for Bioimaging and Drug Delivery Applications: A Review. *AC Materials Letters*, 3(6), 889–911. <https://doi.org/10.1021/acsmaterialslett.0c00550>
- [110] Qu, D., Zheng, M., Li, J. et al. Adaptação de emissões de cor de pontos quânticos de grafeno dopados com N para aplicações de bioimagem. *Light Sci Appl* 4, e364 (2015). <https://doi.org/10.1038/lsci.2015.137>
- [111] Zhao, C., Song, X., Liu, Y., Fu, Y., Ye, L., Wang, N., Wang, F., Li, L., Mohammadniaei, M., Zhang, M., Zhang, Q., & Liu, J. (2020). Synthesis of graphene quantum dots and their applications in drug delivery. *Journal of Nanobiotechnology*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12951-020-00698-z>
- [112] Characterization of carbon materials with Raman spectroscopy Following the guidelines of ASTM E3220. (n.d.). Retrieved December 22, 2024, from https://lcms.cz/labrulez-bucket-strapi-h3hsga3/410000059_B_download_c72493ec68/410000059-B.download.pdf
- [113] Characterizing graphene with Raman spectroscopy. (n.d.). <https://assets.thermofisher.com/TFS-Articles/MSD/Application-Notes/AN53174-characterizing-graphene-raman-spectroscopy.pdf>
- [114] Basic Principles of Raman Spectroscopy for Graphene. *NTT Technical Review*. (n.d.). [Www.ntt-Review.jp. https://www.ntt-review.jp/archive/ntttechnical.php?contents=ntr201308fa2.html](https://www.ntt-review.jp/archive/ntttechnical.php?contents=ntr201308fa2.html)
- [115] Qu, D., Zheng, M., Zhang, L., Zhao, H., Xie, Z., Jing, X., Haddad, R. E., Fan, H., & Sun, Z. (2014). Formation mechanism and optimization of highly luminescent N-doped graphene quantum dots. *Scientific Reports*, 4(1). <https://doi.org/10.1038/srep05294>
- [116] Bakeshlouy Afshar, M., Poursattar Marjani, A. & Gozali Balkanloo, P. Introducing graphene quantum dots in decomposable wheat starch-gelatin based nano- biofilms. *Sci Rep* 14, 2069 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-52560-z>
- [117] R. Jenkins, X-ray techniques: overview. in: encyclopedia of analytical chemistry, R. A. Meyers (Ed.), John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK, 2006, p. a6801.
- [118] Jung, H. (2021). Basic Physical Principles and Clinical Applications of Computed Tomography. *Progress in Medical Physics*, 32(1), 1–17. <https://doi.org/10.14316/pmp.2021.32.1.1>

- [119] Luo, D., Wang, X., Burda, C., & Basilion, J. P. (2021). Recent Development of Gold Nanoparticles as Contrast Agents for Cancer Diagnosis. *Cancers*, 13(8), 1825. <https://doi.org/10.3390/cancers13081825>
- [120] CHAU NGUYEN, H.; NGUYEN, N. T. T.; LIEN NGUYEN, V. On the density of states of circular graphene quantum dots. *Journal of Physics: Condensed Matter*, v. 29, n. 40, p. 405301, 31 ago. 2017
- [121] Wang, F. H., Bae, K., Huang, Z. W., & Xue, J. M. (2018). Two-photon graphene quantum dot modified Gd₂O₃ nanocomposites as a dual-mode MRI contrast agent and cell labelling agent. *Nanoscale*, 10(12), 5642–5649. <https://doi.org/10.1039/c7nr08068a>
- [122] Lin, J., Chen, X., & Huang, P. (2016). Graphene-based nanomaterials for bioimaging. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 105, 242–254. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.05.013>
- [123] Bi, H., He, F., Dong, Y., Yang, D., Dai, Y., Xu, L., Ruichan Lv, Gai, S., Yang, P., & Lin, J. (2018). Bismuth Nanoparticles with “Light” Property Served as a Multifunctional Probe for X-ray Computed Tomography and Fluorescence Imaging. *Chemistry of Materials*, 30(10), 3301–3307. <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.8b00565>
- [124] DenOtter, T. D., & Schubert, J. (2023). Hounsfield Unit. In StatPearls. *StatPearls Publishing*
- [125] Liang, L., Peng, X., Sun, F., Kong, Z., & Shen, J.-W. (2020). A review on the cytotoxicity of graphene quantum dots: from experiment to simulation. *Nanoscale Advances*, 3(4), 904–917. <https://doi.org/10.1039/d0na00904k>
- [126] Fasbender, S., Zimmermann, L., Cadeddu, R.P. et al. The Low Toxicity of Graphene Quantum Dots is Reflected by Marginal Gene Expression Changes of Primary Human Hematopoietic Stem Cells. *Sci Rep* 9, 12028 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48567-6>
- [127] Hadad, C., González-Domínguez, J. M., Armelloni, S., Mattinzoli, D., Ikehata, M., Istif, A., Ostric, A., Cellesi, F., Alfieri, C. M., Messa, P., Ballesteros, B., & Da Ros, T. (2020). Graphene quantum dots: From efficient preparation to safe renal excretion. *Nano Research*, 14(3), 674–683. <https://doi.org/10.1007/s12274-020-3096-y>
- [128] Helal-Neto, E., de Barros, A. O. da S., Saldanha-Gama, R., Brandão-Costa, R., Alencar, L. M. R., dos Santos, C. C., Martínez-Máñez, R., Ricci-Junior, E., Alexis, F., Morandi, V., Barja-Fidalgo, C., & Santos-Oliveira, R. (2019). Molecular and Cellular Risk Assessment of Healthy Human Cells and Cancer Human Cells Exposed to Nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(1), 230. <https://doi.org/10.3390/ijms21010230>
- [129] PEREIRA, A. M.; SCHIMIDT, L. R.; GOMES, F. C. A Revolução dos Raios X na Medicina. *Revista Brasileira de História da Ciência*, v. 16, n. 1, p. 45-60, 2023.
- [130] CORDEIRO, J. M. et al. Grafeno: Propriedades e Aplicações. *Revista de Materiais*, v. 30, n. 2, p. 123-135, 2015.

- [131] GRIFFANTE, G. **O Grafeno e suas Aplicações na Indústria.** São Paulo: Editora Técnica, 2019.
- [132] DRESSELHAUS, M. S.; DRESSELHAUS, G.; EKLUND, P. C. **Science of Fullerenes and Carbon Nanotubes**. Academic Press, 1995.
- [133] GARCIA, A. et al. **Técnicas avançadas de caracterização de materiais.** 1. ed. São Paulo: Editora Científica, 2021. Handayani
- [134] SOUZA, M. et al. **Difratometria de raios X: teoria e prática.** 3. ed. Curitiba: Editora Científica, 2022.
- [135] PEDROSO, L. **Microscopia de força atômica: princípios e aplicações.** 1. ed. Belo Horizonte: Editora Universitária, 2022.
- [136] MESQUITA, R.; MATOS JÚNIOR, F. **Espectroscopia Raman: fundamentos e aplicações.** 2. ed. Rio de Janeiro: Editora Técnica, 2022.
- [137] SOUZA SAMARAH, T. et al. **Técnicas de análise de partículas.** 1. ed. Porto Alegre: Editora Avançada, 2022.

APÊNDICE

DIAGNÓSTICO: CLASSE DE EQUIPAMENTOS DE RAIOS X

Raios X Convencional

A radiografia convencional é comumente usada como modalidade de imagem inicial para investigar distúrbios dos mais variados. Sozinha, pode ser capaz de diagnosticar complicações e delimitar as abordagens terapêuticas [41]. Durante o processo de radiografia, a radiação na forma de raios X passa pelo corpo do paciente. Parte desse raio X é absorvida e a outra é espalhada pelas estruturas internas, e o que resta, é transmitido a um detector [42]. Durante o processo de imagem, o equipamento convencional utiliza de uma fonte e um detector planar que geram a imagem de projeção em 2D do paciente. Essa imagem gerada tem intensidade e é proporcional à quantidade pela qual os raios X são atenuados à medida que passam pelo corpo, ou seja, a distribuição espacial 3D dos coeficientes de atenuação dos raios X é projetada em uma imagem 2D [43].

A captura de uma imagem de raio X envolve três etapas principais. Primeiro, os raios X interagem com um meio de detecção adequado, gerando uma resposta mensurável. Em seguida, essa resposta é temporariamente armazenada em um dispositivo de gravação. Por fim, ocorre a medição da resposta armazenada. Por exemplo, em sistemas de filme de tela, os raios X interagem com um material fosforescente, emitindo fôtons de luz visível, que criam uma imagem latente no filme fotográfico. Posteriormente, essa imagem é revelada, resultando em uma fotografia fixa [44]. A imagem resultante fornece informações diagnósticas importantes devido às diferenças nos coeficientes de atenuação de osso, músculo, gordura e outros tecidos na faixa de 40–120 keV usada na radiografia clínica [45].

Tomografia Computadorizada

A tomografia computadorizada (TC) – desenvolvida 70 anos após a descoberta dos raios X, em 1971 – utiliza radiação para capturar imagens detalhadas das estruturas internas do corpo, oferecendo uma visão em 360 graus, criando uma projeção 3D significativamente mais precisa do que o Raio X convencional. Apesar de ser um pouco mais demorada que o Raio X, a TC é rápida, geralmente concluída em cerca de minutos, o que a torna uma ferramenta indispensável para diagnósticos detalhados, especialmente em emergências [46-48].

Diferente do raio X convencional, onde uma imagem planar é gerada, no TC uma mesa motorizada move o paciente através de uma abertura circular no sistema de tomografia computadorizada, onde uma fonte de raios X e detectores giram ao seu redor. Durante cada rotação, concluída em cerca de um segundo, a fonte emite um feixe em forma de leque que atravessa o corpo, enquanto os detectores capturam "instantâneos" de diferentes ângulos. Esses dados são enviados para um

computador, que os processa e reconstrói em imagens transversais detalhadas dos órgãos e tecidos internos, permitindo uma análise precisa. [48, 49]

A TC utiliza unidades de Hounsfield (HU) para medir a atenuação dos raios X pelos tecidos. A água tem um valor de 0 HU, enquanto o ar tem -1000 HU, e os tecidos moles geralmente apresentam valores entre 30 a 100 HU. Exceções incluem o tecido pulmonar, com valores próximos de -1000 HU, e os ossos, com valores em torno de 1000-3000 HU [50,51]. A maioria dos scanners de TC é calibrada com base na água. Embora muitos tecidos sejam visíveis na tomografia computadorizada, pode ser difícil distinguir interfaces entre tecidos adjacentes ou entre tecidos moles e fluidos. Diferenças de 50–100 HU ajudam na diferenciação, mas diferenças maiores melhoram a qualidade das imagens. Por isso, agentes de contraste são usados para aumentar a sensibilidade, melhorar a diferenciação entre os tecidos e fornecer informações sobre a função dos órgãos [49, 52].

A Escala de Hounsfield na Tomografia Computadorizada: Fundamentos e Aplicações

A Tomografia Computadorizada (TC) é uma técnica de imagem amplamente utilizada na medicina e em pesquisas científicas, cuja eficácia depende, em grande parte, da utilização da Escala de Hounsfield. Essa escala é uma ferramenta fundamental para quantificar a densidade dos tecidos e materiais, sendo essencial para a interpretação das imagens geradas pela TC e para a diferenciação dos diversos tipos de tecidos e substâncias. A Escala de Hounsfield mede a atenuação dos raios X em um tomógrafo computadorizado, e sua unidade de medida é denominada Unidade Hounsfield (UH). [121, 124]. A Escala de Hounsfield é definida matematicamente pela seguinte equação:

$$HU = \frac{1000 \times \mu_{material} - \mu_a}{\mu_a}$$

Onde:

$\mu_{material}$ representa o coeficiente de atenuação do material em análise; μ_a corresponde ao coeficiente de atenuação da água, que é estabelecido como referência e possui valor 0 (zero) na Escala de Hounsfield.

Essa escala permite a quantificação precisa da densidade dos tecidos, oferecendo uma base padronizada para a interpretação das imagens de TC. A água, por exemplo, é utilizada como ponto de referência, com valor 0 UH, enquanto o ar é representado por -1000 UH e os tecidos ósseos densos podem atingir valores superiores a 1000 UH. Essa variação numérica permite a distinção clara entre diferentes estruturas anatômicas e patológicas. [119, 124]

Aplicações da Escala de Hounsfield

1. Diagnóstico Médico: A Escala de Hounsfield desempenha um papel crucial no diagnóstico médico, pois permite a diferenciação entre diversos tipos de tecidos. Essa capacidade é fundamental para identificar condições patológicas, avaliar órgãos internos e detectar anomalias, como tumores, hemorragias ou infecções. A precisão na quantificação da densidade dos tecidos facilita a interpretação das imagens, contribuindo para diagnósticos mais acurados.
2. Planejamento Cirúrgico: No contexto cirúrgico, a Escala de Hounsfield é utilizada para identificar a localização e a natureza de lesões e anomalias. Essa informação é vital para o planejamento de procedimentos cirúrgicos, permitindo que os profissionais de saúde delineiem estratégias precisas e minimizem riscos durante as intervenções.
3. Pesquisa Científica: Além de suas aplicações clínicas, a Escala de Hounsfield é amplamente utilizada em estudos científicos para analisar e quantificar a composição de tecidos e materiais. Sua padronização facilita a comparação de resultados entre diferentes pesquisas, contribuindo para o avanço do conhecimento em áreas como radiologia, oncologia e engenharia biomédica.

A Escala de Hounsfield é um componente essencial da Tomografia Computadorizada, fornecendo uma metodologia padronizada para a quantificação da densidade dos tecidos e materiais. Sua aplicação abrange desde o diagnóstico médico e o planejamento cirúrgico até a pesquisa científica, destacando-se como uma ferramenta indispensável para a interpretação precisa de imagens de TC. Ao estabelecer uma referência clara e quantificável, a Escala de Hounsfield contribui significativamente para o avanço da medicina diagnóstica e terapêutica, bem como para o desenvolvimento de pesquisas inovadoras na área da saúde.[124, 126]

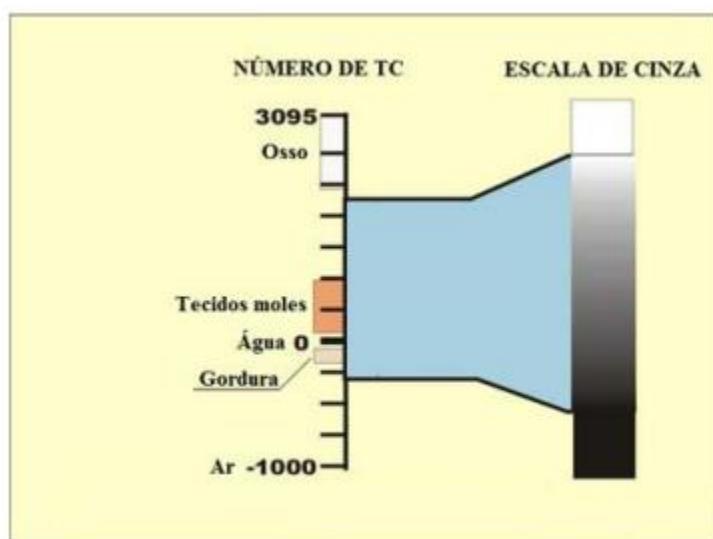


Figura 7. Escala de Hounsfield: relação dos números de TC na escala de cinza.

O CONTRASTE E SEU USO E SUA HISTÓRIA NA RADIOLOGIA

Contraste, de acordo com uma definição generalista, refere-se ao efeito de enfatizar uma oposição qualitativa ou quantitativa entre duas entidades, onde uma destaca a outra. Nas investigações com radiografia, as características intrínsecas das estruturas possibilitam a criação de contrastes naturais nas imagens. Em outras palavras, diferentes estruturas anatômicas absorvem o feixe de raios-X em graus distintos. A magnitude dessa absorção varia conforme o número de elétrons no trajeto do feixe, o qual depende da espessura, densidade e número atômico da estrutura estudada. Quando há uma disparidade significativa na densidade entre dois órgãos, como ocorre entre o músculo cardíaco e o ar nos pulmões, os contornos das estruturas podem ser discernidos em uma radiografia devido ao contraste natural existente. [5, 6]

Os avanços na prática da radiologia clínica foram viabilizados não apenas pelo progresso no conhecimento médico e na tecnologia diagnóstica, mas também pela introdução dos produtos de contraste iodados (PCI), os quais possibilitaram a visualização detalhada de estruturas e órgãos internos que, de outra forma, seriam indistinguíveis. O desenvolvimento farmacológico contínuo resultou em uma notável tolerância aos PCI modernos, com efeitos adversos intra-vasculares geralmente leves e auto-limitados, enquanto as reações extra-vasculares são raras. No entanto, reações graves ou potencialmente fatais podem ocorrer em ambas as vias de administração. Portanto, é importante que radiologistas e outros profissionais de saúde estejam cientes dos fatores de risco associados às reações adversas aos PCI e dominem as estratégias para minimizá-las por meio de rápido reconhecimento e tratamento eficaz. Com a ampla utilização dos PCI, especialmente com o aumento da Tomografia Axial Computadorizada, esse tema torna-se relevante não apenas para radiologistas, mas também para todos os clínicos em geral. [128, 125].

Em 1900, começou-se a aplicar produtos de contraste positivos *in vivo*, sendo utilizados para opacificar cavidades viscerais, estruturas tubulares e trajetos fistulosos. Em 1905, Von Lichtenberg realizou a pielografia retrógrada e a cistografia, utilizando (*rGO*) como meio de contraste. Em 1923, Berberich sugeriu o uso de brometo de estrôncio aquoso para opacificar os vasos sanguíneos, exigindo a interrupção mecânica do fluxo sanguíneo por compressão para evitar rápida diluição do contraste. [124, 128].

Entre 1904 e 1950, contrastes negativos, como ar, oxigênio e dióxido de carbono, foram empregados em várias técnicas, incluindo cistografia gasosa, artrografia do joelho e pneumoperitônio diagnóstico. Em 1915, Stewart realizou inadvertidamente a primeira traqueobroncografia durante um trânsito esofágico com bário em um paciente com fístula traqueoesofágica. Em 1918, Halsted e Dandy, ao observarem um politraumatizado, notaram a presença de ar nos ventrículos cerebrais, o que levou à criação da técnica de ventriculografia cerebral diagnóstica. Todos os produtos de contraste iodados (PCI) comumente utilizados são derivados químicos do anel de benzeno tri-iodado. Eles são classificados com base em suas

propriedades físicas e químicas, incluindo estrutura química, osmolalidade, conteúdo de iodo e ionização em solução. Na prática clínica, a categorização com base na osmolalidade é a mais comumente empregada. [7, 8]

Como constatado, apesar dos avanços significativos na síntese dos produtos de contraste iodados (PCI), seu uso generalizado tem levou a um aumento inevitável e frequente das reações adversas ao seu uso intravascular. Isso torna o tema das reações adversas fundamental para todos os clínicos, especialmente para os radiologistas. É importante destacar que os radiologistas são responsáveis pela administração do contraste intravenoso e pela intervenção médica imediata no caso de uma reação adversa, até que assistência mais especializada esteja disponível. As reações adversas locais são mais comuns do que outras reações e ocorrem devido a lesões vasculares ou extravasamento de contraste, resultando em danos nos tecidos. [6,7]

Atualmente, uma dose diagnóstica eficaz de agente de contraste para tomografia computadorizada é geralmente na faixa de concentração molar. Por exemplo, em uma arteriografia coronária, um paciente adulto (75kg) recebe cerca de 45 mL de Hexabrix™ contendo 24 g de ioxaglato, podendo atingir até 150 mL no total. Essa alta concentração de contraste torna a TC menos vantajosa em comparação a outras técnicas, como ressonância magnética e imagem nuclear, que exigem menores concentrações [53, 55].

Assim, a busca por um agente de contraste ideal para TC, que maximize a qualidade da imagem e minimize a dose e a toxicidade, continua sendo uma tarefa em andamento. Com isso, a nanotecnologia tem emergido como uma solução promissora, oferecendo a possibilidade de desenvolver agentes de contraste mais eficazes e seguros. A manipulação de materiais em escala nanométrica pode permitir a criação de contrastes mais específicos e direcionados, reduzindo os efeitos colaterais e melhorando a precisão do diagnóstico por TC [54,55].

NANOTECNOLOGIA

Para abordar grandes dilemas científicos, a nanotecnologia emergiu nas últimas décadas como uma área inovadora, dedicada ao desenvolvimento e aplicação de novos materiais em escala nanométrica (10-9). Historicamente, é interessante notar que a nanotecnologia já era empregada no ano IV d.C., quando os romanos utilizavam técnicas rudimentares para a produção de nanopartículas [56]. Atualmente, a nanotecnologia destaca-se por sua multidisciplinaridade, estabelecendo interações significativas com diversos campos científicos, como a ciência dos materiais, a física, a química e as engenharias [57]. Essas interações não poderiam deixar também de compreender grandes áreas médicas e biológicas [58], como a aplicação na medicina diagnóstica.

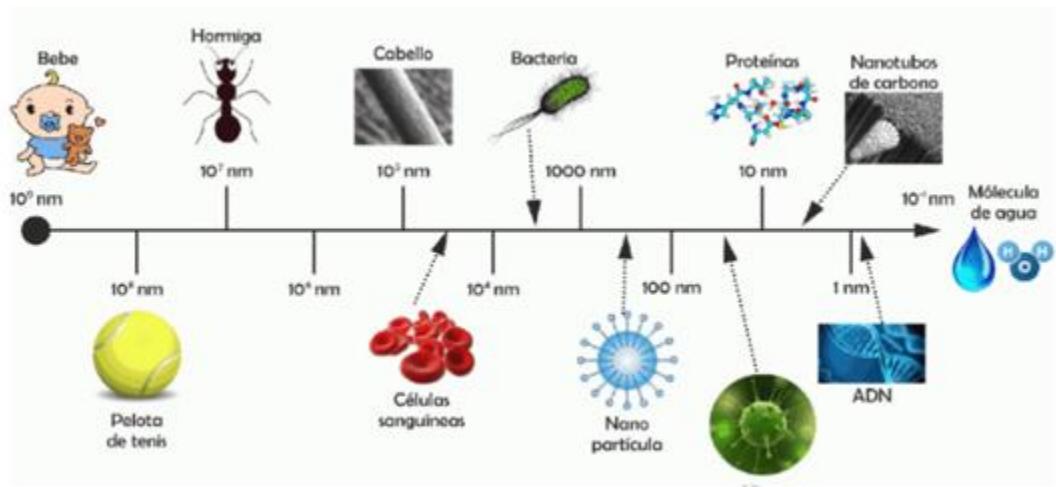


Figura 8. Escala de comprimento do nanômetro do metro.

A nanotecnologia tem impulsionado significativamente os avanços em imagem, devido a síntese de nanomateriais com foco na detecção precoce, diagnóstico e prognóstico de doenças, aprimorando as tecnologias já existentes e ampliadas [59]. Toda essa “narrativa” só é possível graças à compreensão aprofundada dos nanomateriais, incluindo suas propriedades químicas, físicas e biológicas. Esses materiais são classificados com base em diferentes critérios, como a origem da matéria-prima, sendo ela natural ou sintética. Além disso, a classificação abrange a configuração estrutural, distinguindo nanomateriais orgânicos e inorgânicos, e considerando também o número de dimensões, toxicidade e número de poros [60, 61].

Com relação aos nanomateriais baseados na origem da matéria prima, encontram-se os naturais e artificiais. Os nanomateriais naturais ocorrem em várias formas na natureza, incluindo vírus, moléculas de proteínas e minerais como argila. Eles também podem ser encontrados em coloides naturais, como leite e sangue, névoa (aerossóis), gelatina e materiais mineralizados como conchas, corais e ossos [62]. Por outro lado, os nanomateriais, são criados intencionalmente por meio de processos mecânicos e de fabricação precisos [61, 63].

Em relação à classificação com base na composição, os nanomateriais são divididos em orgânicos e inorgânicos. Os nanomateriais orgânicos (por exemplo, micelas, lipossomas) não são tóxicos, são biodegradáveis e são ideais para a administração de medicamentos devido às suas estruturas ocos e à sua sensibilidade à luz e ao calor. Os nanomateriais inorgânicos, como as nanopartículas magnéticas (por exemplo, maghemita, magnetita, ouro), são mais estáveis, biocompatíveis e hidrofílicos, mas metais como o níquel e o cobalto são limitados pela toxicidade. A escolha entre nanomateriais orgânicos e inorgânicos depende dos requisitos específicos da aplicação [64,65].

Atrelado a composição, encontram-se os nanomateriais baseados na

estruturação química, ou seja, com base na sua dimensionalidade, que os insere em quatro categorias (Figura 7). Os nanomateriais de dimensão zero (0D) têm as três dimensões à escala nanométrica, com exemplos como os pontos quânticos, os fulerenos e as nanopartículas. Os nanomateriais unidimensionais (1D) têm uma dimensão fora da nanoescala, incluindo nanotubos, nanofibras, nanobastões, nanofios e nano-chifres. Os nanomateriais bidimensionais (2D) têm duas dimensões fora da nanoescala, tais como nanoplacas, nanofilmes e nanofolhas. Finalmente, os nanomateriais tridimensionais (3D), ou nanomateriais a granel, que não estão confinados à nanoescala em nenhuma dimensão, incluindo dispersões de nanopartículas e matrizes de nanofios e nanotubos [66, 67].

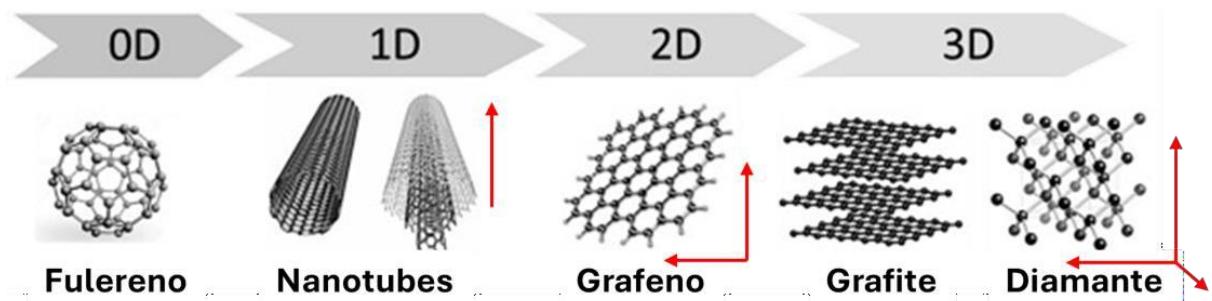


Figura 9. Ilustração dos diferentes nanomateriais e suas dimensionalidades, 0D, 1D, 2D e 3D, as setas vermelhas exemplificam a direção para fora da nanoescala. [68].

Expandido o conhecimento sobre os nanomateriais, outras características fundamentais ditarão a capacidade de interação, em caso de aplicabilidades médicas. Essas interações envolvem uma série de fenômenos biofísico-químicos, como interações estéricas, eletrostáticas, hidrofóbicas, interações com solventes e interações biológicas. Os principais fatores que influenciam essas interações e determinam a formação da interface incluem o tamanho, o formato, a carga superficial/pKa e a química dos ligantes. Esses fatores, garantem o uso direcionado e pontual para técnicas de tratamento e diagnóstico.[69, 70].

A detecção precoce de doenças e deformidades impulsiona o avanço tecnológico, oferecendo benefícios além dos agentes de contraste convencionais. As nanopartículas de imagem, por exemplo, possibilitam a visualização funcional e o monitoramento de processos biológicos, como a detecção de macrófagos em lesões ateroscleróticas por TC e a imagem molecular de angiogênese por ressonância magnética. Além disso, o tempo prolongado de circulação plasmática das nanopartículas melhora a biodistribuição, aumentando o sinal de contraste nas lesões. Sua forma e tamanho podem ser ajustados para otimizar o carregamento de compostos de imagem, e suas propriedades físicas podem ser modificadas para atender a necessidades clínicas específicas [69, 70].

Um exemplo, publicado demonstrara o uso de nanopartículas metálicas, como no caso de nanopartículas de ouro [71], no auxílio à determinação precisa do local cirúrgico,

na realização de biópsias e no monitoramento das condições pós-operatórias. Embora os autores relatem que os agentes de contraste a base de iodo sejam amplamente utilizados, recentemente, radiologistas têm se interessado por nanopartículas com alto número atômico, como ouro, tântalo, bismuto e prata [72].

Além de [71, 73], demonstraram que as nanopartículas de óxido de cério são potenciais candidatas a agentes de contraste para imagens de raios X, devido ao alto número atômico (Z) do átomo. O modelo animal mostrou um aumento significativo no contraste de raios X, com uma melhoria de até dez vezes, utilizando concentrações muito menores do que as dos agentes de contraste comerciais ou outros previamente propostos.

A utilização de esponjas de grafeno em microtomografia computadorizada de raios X para gerar imagens após a absorção de nanopartículas metálicas, como prata e ferro [74]. Enquanto Wanas e colaboradores (2023) também aborda o produtos à base de grafeno como um composto promissor para a bioimagem de tumores, graças as suas propriedades ópticas, morfológicas, de carga de superfície e estruturais das nanoestruturas [75]. Esses resultados destacam a versatilidade de diferentes nanomateriais com variadas composições, que podem ser aplicados no diagnóstico por imagem, integrando-se à medicina nuclear de forma eficaz. Nesse contexto, o grafeno e seus derivados (óxido de grafeno, óxido de grafeno reduzido, pontos quânticos de grafeno) emergem como materiais promissores, oferecendo uma plataforma altamente eficiente para aprimorar as tecnologias de imagem, devido às suas propriedades únicas, como alta condutividade e capacidade de modulação química [76].

Grafeno

O grafeno é folha expressa constituída atomicamente de carbonos hibridizados sp₂ disponíveis em uma monocamada configurada em favo de mel bidimensional (2D). Essa estrutura carbônica é a base de outros derivados do grafeno como fulereno, nanotubos, etc [77]. Desde seu isolamento em 2004, o grafeno e seus derivados, como óxido de grafeno, óxido de grafeno reduzido e os pontos quânticos de grafeno mostrado na Figura 8, ganharam destaque devido às suas propriedades únicas, sendo amplamente explorados em áreas como biossensores, entrega de medicamentos, bioimagem e teranóstica, com grande impacto na ciência e tecnologia [78,79].

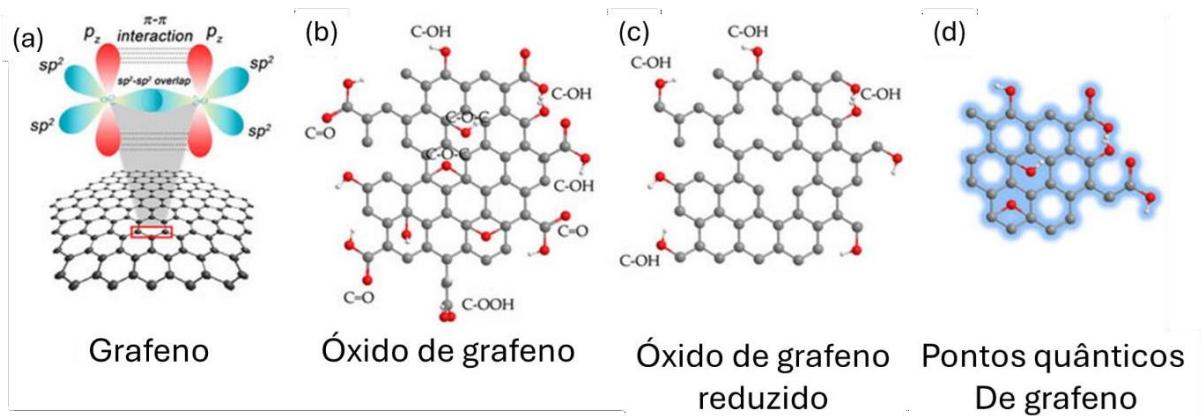


Figura 10. indicando elétrons π livres; (b) o óxido de grafeno; (c) o óxido de grafeno reduzido e (d) os pontos quânticos de grafeno. [80].

O grafeno é o cristal bidimensional mais conhecido encontrado na natureza, com propriedades que diferem significativamente das dos cristais tridimensionais. A conjugação π estendida entre seus átomos de carbono confere ao grafeno características térmicas e mecânicas únicas, tornando-o altamente desejável para diversas tecnologias [81]. Além disso, o grafeno possui uma ampla área superficial específica, alta transparência óptica e excelente condutividade térmica. No entanto, o que o distingue de maneira notável são suas propriedades eletrônicas únicas, que abrem inúmeras possibilidades para o desenvolvimento de dispositivos nanoeletrônicos avançados. Devido ao comportamento relativístico dos elétrons no grafeno, esse material se destaca como uma plataforma promissora para explorar e testar modelos teóricos de campo quântico, especialmente em contextos da física de altas energias. Diante disso, o grafeno apresenta um grande potencial em bioimagem, abrangendo técnicas como imagem óptica, fluorescência convencional e de dois fôtons, imageamento Raman e métodos baseados em radionuclídeos [82].

E pode ser identificado do seguinte modo [133]:

- SLG – Grafeno Monocamada (Single-Layer Graphene)
- MLG – Grafeno Multicamada (Multi-Layer Graphene)
- GO – Óxido de Grafeno (Graphene Oxide)
- rGO – Óxido de Grafeno Reduzido (Reduced Graphene Oxide)
- N-G – Grafeno Dopado com Nitrogênio (Nitrogen-Doped Graphene)
- B-G – Grafeno Dopado com Boro (Boron-Doped Graphene)
- P-G – Grafeno Dopado com Fósforo (Phosphorus-Doped Graphene)
- CVD-G – Grafeno por Deposição de Vapor Químico (Chemical Vapor Deposition Graphene)

- GQDs – Pontos Quânticos de Grafeno (Graphene Quantum Dots)

Similar ao grafeno, o óxido de grafeno (GO) é um material 2D obtido da oxidação química do grafite. Esse material já era conhecido bem antes no grafeno puro e é um dos nanomateriais mais promissores da família do grafeno [83]. A estrutura mais amplamente aceita do óxido de grafeno consiste em grupos carbonila e carboxila localizados nas bordas da rede de grafeno, enquanto grupos hidroxila e epóxi estão ligados ao plano basal. A proporção de grupos contendo oxigênio varia conforme a rota de síntese e o material utilizado como fonte de carbono. Além disso, durante o processo de oxidação, formam-se fragmentos altamente oxidados, conhecidos como detritos oxidativos (OD) [83].

Os grupos funcionais presentes no óxido de grafeno conferem a ele características hidrofílicas, diferenciando-o de outros materiais grafíticos e possibilitando uma ampla gama de modificações e aplicações, especialmente em contextos biomédicos [84]. Essa estrutura facilita a funcionalização com diversas moléculas biológicas e agentes específicos, tornando o GO um excelente transportador para medicamentos ou ácidos nucleicos, com grande potencial para terapias direcionadas contra o câncer [85].

A diversidade desses grupos funcionais, assim como o tamanho lateral, os domínios localizados e os dopantes provenientes de solventes desempenham um papel significativo na modulação das transições de energia eletrônica e nas propriedades de fluorescência do óxido de grafeno (GO). Graças à fluorescência intrínseca do GO, na faixa do visível e do infravermelho, tornam o óxido de grafeno um nanomaterial promissor em técnicas de bioimagem. [86, 83]

Embora o óxido de grafeno seja amplamente estudado, sua forma reduzida, o óxido de grafeno reduzido ou (rGO), possui suas vantagens. A redução química do óxido de grafeno pode se dar pela adição de compostos como hidrazina, hidrato de hidrazina, ácido L-ascórbico e borohidreto de sódio [87], dentre outros. Além da redução química, o óxido de grafeno pode ser convertido em óxido de grafeno reduzido por meio de métodos de redução eletroquímica e térmica. Essas técnicas conferem ao (rGO) uma maior condutividade elétrica e térmica, resultado da remoção parcial dos grupos oxigênicos e menos interrupção em sua rede de ligação sp₂, em comparação à sua forma não reduzida [88,89].

Curiosamente, após a redução do GO, a conjugação das ligações π é significativamente ampliada, o que pode ser observado pelo deslocamento para o vermelho nos espectros de absorção UV. No (rGO) o transporte de elétrons ocorre predominantemente por meio do mecanismo de salto. Devido ao extenso volume de conjugação de elétrons π presente no material, o (rGO) encontra amplas aplicações em tecnologias de armazenamento de energia [90]. Por outro lado, sua aplicabilidade também se estende para a área biomédica devido a suas propriedades de biocompatibilidade, sendo menos citotóxico, além de promover menos agregação plaquetária quando comparado com o óxido de grafeno puro. Embora a interação do óxido de grafeno reduzido com sistemas biológicos ainda

exija maior investigação, estudos indicam seu grande potencial em diversas aplicações biomédicas.

O (rGO) tem se destacado na entrega de fármacos e genes, fototerapia, biossensores, engenharia de tecidos, controle bacteriano e bioimagem. Sua fluorescência intensa em comprimentos de onda de excitação específicos o torna eficaz em imagens ópticas, tanto *in vivo* quanto *in vitro*. Além disso, o (rGO) funciona como um transportador eficiente de agentes de contraste em tecnologias avançadas, incluindo imagens fotoacústicas, ressonância magnética (RM) e tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT) [91,92].

Por fim, os pontos quânticos de grafeno (GQDs), que apresentam propriedades ópticas e químicas únicas, atraindo interesse em áreas como biologia, bioimagem, detecção óptica e catálise química. Com uma estrutura de carbônica os GQDs exibem espectros de excitação de luminescência amplos, emissões simétricas estreitas e grandes mudanças de Stokes. Até agora, os GQDs – ator principal deste trabalho – têm demonstrado amplo sucesso em aplicações [93, 99]

Métodos de síntese do grafeno e seus derivados: Top down e Bottom-up

Método bottom-up

No método bottom-up, destaca-se a síntese do grafeno por meio de técnicas como crescimento epitaxial e decomposição química (CDV). No crescimento epitaxial, um cristal de SiC é exposto a altas temperaturas, levando os átomos de silício na superfície a absorverem átomos de carbono e formarem estruturas grafíticas. À medida que o silício sublima, novas camadas de grafeno são criadas e se sobreponem, resultando em uma estrutura que varia em quantidade de camadas empilhadas e tamanho da rede, dependendo da estrutura do mineral. [90,93].

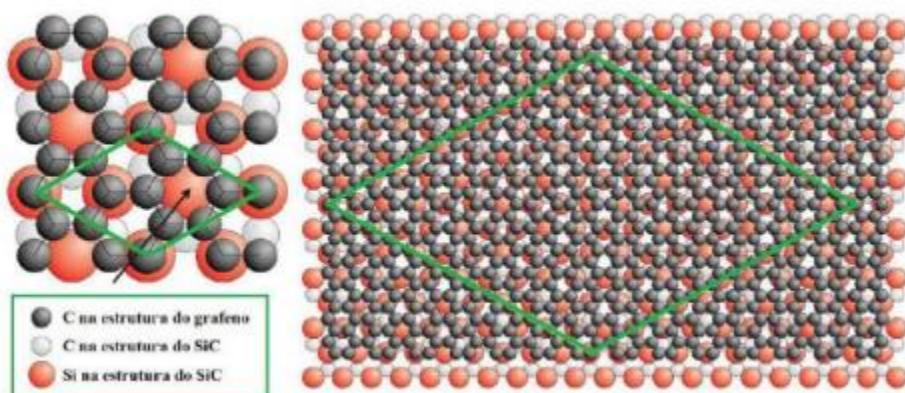


Figura 11. Crescimento de grafeno por crescimento epitaxial.

Atualmente, não existe tecnologia capaz de controlar todas as variáveis envolvidas na produção de grafeno, tanto no método de crescimento epitaxial quanto na decomposição química a vapor. Além disso, algumas propriedades eletrônicas do grafeno são afetadas quando produzido por esses métodos. O custo do processo é elevado, principalmente devido à necessidade de ser realizado em vácuo, embora pesquisas estejam explorando a possibilidade de realizá-lo em atmosferas controladas com gases específicos, o que reduziria os custos, porém ainda não seria praticável em escala comercial. [134, 135]

Na decomposição química a vapor, os precursores de carbono são decompostos em fornos com atmosfera e temperaturas controladas, sobre catalisadores metálicos adequados, como níquel, cobre, cobalto e rubídio, que facilitam a quebra das ligações moleculares. O grafeno é formado em filme único sobre um substrato metálico, apresentando variações em suas propriedades de acordo com o metal utilizado e as condições de produção. [142, 143]

O desafio atual é controlar a uniformidade dos filmes de grafeno, embora pesquisas estejam em andamento para otimizar esse processo. Por outro lado, a transferência desses filmes para diferentes superfícies facilita suas possíveis aplicações.

Top-down

No método top-down, o grafeno é obtido a partir da grafita por meio da esfoliação mecânica ou química. Cada camada que compõe a grafita é uma camada de grafeno. Na esfoliação mecânica, ocorre a descamação das camadas do grafeno em flocos de grafita com o auxílio de uma fita adesiva, utilizando movimentos de colagem e descolagem, o que resulta na clivagem preferencial nos planos cristalinos, expondo os planos atômicos. Após esse processo, o material é removido da fita por um banho de solução de acetona, juntamente com um substrato de dióxido de silício (SiO_2), onde o grafeno fica retido. Para obter uma camada de grafeno, esse procedimento precisa ser repetido várias vezes. [144, 142].

Com este método, é produzido um grafeno com perfeita cristalinidade e com poucos defeitos em sua estrutura, porém a produtividade é limitada devido à sua natureza artesanal, e o custo do produto final é elevado devido ao baixíssimo rendimento, tornando-o inviável economicamente. Já a esfoliação química consiste na oxidação da grafita por agentes oxidantes fortes, como o ácido sulfúrico, ácido nítrico, permanganatos e cloratos, nos quais íons são intercalados na estrutura da grafita, ampliando o espaço interplanar, resultando no material denominado grafita intercalada.

Após a oxidação, é necessário submeter a grafita intercalada a uma esfoliação, utilizando, por exemplo, ultrassom, que separa camadas de grafita,

gerando o grafeno. Dentre as diferentes rotas químicas, destacam-se as desenvolvidas por Staudenmaier, Hofmann e Hummers. [141, 143]

MÉTODO	PRODUTO químico
Staudenmaier	H_2SO_4 e KClO_3
Hofmann	HNO_3 , H_2SO_4 e KClO_3
Hummers	H_2SO_4 , NaNO_3 e KMnO_4
Síntese verde	Ácido cítrico e Citrato de Sódio

Tabela 3. Apresentação dos métodos e seus produtos químicos utilizados.

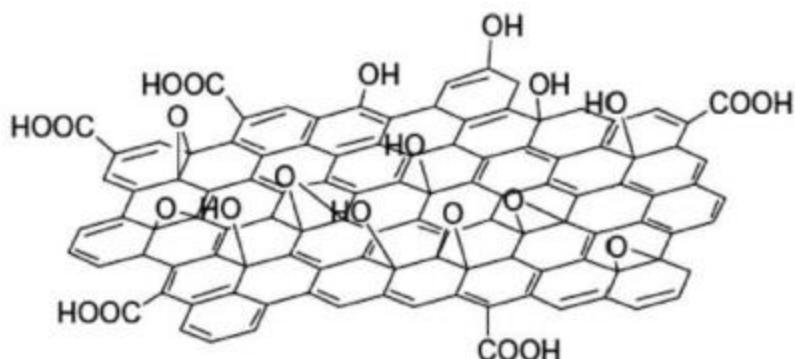


Figura 12. Apresentação da estrutura de óxido de grafeno detalhando grupos funcionais que ficam ligados ao mesmo.

Existe ainda outro método de produção de grafeno, altamente eficiente e de baixo custo, que utiliza radiação eletromagnética (laser de um gravador de DVD) sobre um filme de óxido de grafite para produzir uma camada de grafeno de alta qualidade e mecanicamente resistente, capaz de funcionar como capacitor ou substrato de semicondutor. A síntese por esses métodos é amplamente estudada devido ao baixo custo e às possibilidades de produção em larga escala. No entanto, a ação dos oxidantes pode causar efeitos na estrutura do material. O resultado do processo de oxidação do grafeno inclui uma série de grupos funcionais ligados e falhas na rede hexagonal. Esses grupos podem facilitar a interação com outros

materiais, contribuindo, por exemplo, para a produção de compostos poliméricos, mas também podem interferir nas propriedades elétricas do produto final. [142, 143]

A quantidade de grupos funcionais precisa ser minimizada, o que torna necessário adicionar uma etapa de redução, que pode ser química ou térmica, visando restaurar as ligações π e restabelecer a condutividade elétrica do material, eliminando os radicais anexados e restaurando a rede grafítica característica do grafeno. No processo de redução química, o óxido de grafeno é esfoliado por meio de uma dispersão coloidal com redutores, como hidrazina, dimetildrazina e boro hidreto, seguido de hidroquinona. Por outro lado, a redução térmica se baseia no rápido aquecimento do óxido de grafeno, liberando moléculas de CO, CO₂ e H₂O, o que aumenta a pressão interna da estrutura e força a separação das estruturas. [106, 109].

Apesar do método de separação ter ganhado destaque nos últimos anos, incluindo na produção de amostras comerciais, o número de variações envolvidas no processo é extremamente elevado, e uma pequena mudança em uma dessas variáveis pode levar a materiais com propriedades e características bastante distintas. Tal complexidade torna complicada a comparação entre amostras produzidas por procedimentos diferentes ou, inclusive, a reproduzibilidade de resultados uma vez já obtidos. Nossa síntese é melhor descrita mais adiante pelo método top down por eletrolise oxidativa como uma síntese simples e sustentável, com reagentes mais equilibrados e amigos do meio ambiente.

Pontos Quânticos de Grafeno

Os GQDs são monocamadas de grafeno em escala nanométrica, compostas por átomos de carbono hibridizados sp₂ organizados em uma estrutura bidimensional em forma de favo de mel assim como no grafeno puro, no entanto em confinamento quântico [78,94]. Os GQDs possuem redes de grafeno com tamanho inferior a 100 nm e espessura de menos de dez camadas [96].

A deslocalização de elétrons no grafeno confere propriedades eletrônicas únicas, como alta mobilidade de elétrons e transparência óptica. No caso dos GQDs, essa deslocalização, associada ao confinamento quântico, resulta em níveis discretos de energia e em uma lacuna de banda que varia de acordo com o método de síntese e as condições utilizadas. Essas variações afetam características como tamanho, forma, defeitos, bordas, grupos funcionais e dopagem. Os GQDs apresentam forte absorção na região ultravioleta, atribuída às transições π - π^* em sua estrutura de carbono sp₂, com o pico de absorção deslocando-se para o azul à medida que diminuem de tamanho.

A funcionalização e a dopagem ajustam essas propriedades, permitindo deslocamentos para o vermelho ou azul nos espectros de absorção, dependendo dos grupos químicos envolvidos. Essas características destacam os GQDs como materiais promissores para aplicações optoeletrônicas e biomédicas [97]. A facilidade de funcionalização,

solubilidade em água, baixa toxicidade e alta biocompatibilidade desses nanomateriais de dimensão zero (0D) têm contribuído significativamente para suas aplicações no campo biomédico, como bioimagem, biossensores e liberação de medicamentos [98]. Além disso, a estrutura eletrônica dos GQDs confere forte e ajustável fotoluminescência para bioimagem e biossensores fluorescentes, bem como a capacidade de absorver radiação incidente para terapia fototérmica e fotodinâmica [99].

O mecanismo predominante de fotoluminescência dos GQDs consiste no efeito de confinamento quântico de μ -domínios conjugados, no estado de superfície/borda e no efeito sinérgico desses dois fatores [100]. O que levanta a hipótese de que essas características, juntamente com a estrutura densa em elétrons dos GQDs, também poderiam gerar imagens de raios X e tomografia computadorizada. No entanto, trabalhos anteriores relataram apenas a capacidade de nanopartículas de bismuto revestidas com pontos quânticos de grafeno em melhorar a imagem de TC [101,102]. O bismuto é outro elemento denso em elétrons com alto número atômico, utilizado como agente de contraste para TC [78]. De fato, a literatura aponta as nanopartículas baseadas em bismuto como a sonda mais promissora para tomografia computadorizada de raios X, devido ao maior coeficiente de atenuação de raios X [101,103].

A utilizarem óxido de grafeno dopado com prata (Ag) e funcionalizado com doxorrubicina (DOX) e um peptídeo de direcionamento tumoral contendo Asn-Gly-Arg (GO@Ag-DOX-NGR), demonstraram que o composto atuou simultaneamente como um potente agente de contraste para diagnóstico de tumores por raios X e como um eficaz agente para a ablação fototérmica de tumores. Contudo, até onde sabemos, ainda não há estudos que explorem a aplicação de GQDs puros como agentes de contraste para imagens de raios X e tomografia computadorizada convencionais. [104, 105],

ANEXO 1

Trabalho de dissertação de mestrado em Ciências e tecnologias Nucleares publicado. Título: “Graphene quantum dots as bimodal imaging agent for X-ray and Computed Tomography”

[Contents lists available at ScienceDirect](#)



ELSEVIER

european Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ejpb

[European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 179 \(2022\) 74–78](https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2022.01.012)



Research paper



Graphene quantum dots as bimodal imaging agent for X-ray and Computed Tomography

Claudia Antoine ^a, Martha Sahylí Ortega Pijeira ^a, Eduardo Ricci-Junior ^b,
Luciana Magalhães Rebelo Alencar ^c, Ralph Santos-Oliveira ^{a,d,*}

^a Brazilian Nuclear Energy Commission, Nuclear Engineering Institute, Laboratory of Nanoradiopharmacy and Synthesis of New Radiopharmaceuticals, Rio de Janeiro 21941906, RJ, Brazil

^b Federal University of Rio de Janeiro, School of Pharmacy, Rio de Janeiro 21941900, RJ, Brazil

^c Biophysics and Nanosystems Laboratory, Federal University of Maranhão, Department of Physics, São Luis 65065690, MA, Brazil

^d Rio de Janeiro State University, Laboratory of Radiopharmacy and Nanoradiopharmaceuticals, Rio de Janeiro 23070200, RJ, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords: Diagnosis Biomedical Industrial Medical Nanotechnology A B S T R A C T

The urgency of new contrast agents, especially for X-ray and Computed Tomography (CT) is increasing each day. Although both imaging modalities are the most routinely used imaging techniques, the availability of contrast agent is very limited. In this scenario, the use of graphene quantum dots (GQDs), a member of the graphene family, which has several characteristics, including low toxicity, good biocompatibility and physical-chemical properties, may represent an important application of this material. Thus, using X-ray (conventional) and CT analysis was evaluated the applicability of GQDs as contrast agent for both imaging modalities. The results demonstrated that GQDs are able to attenuate X-ray forming sharp imaging in both modalities. The data broaden the spectrum of GQDs use.

1. Introduction

The use of medical imaging techniques may represent one of the most important tools for daily medical routine. Medical imaging aims to provide relevant anatomical, functional and structural information about the body or parts of the body, which leads to early detection, diagnosis, and appropriate treatment of several diseases [1]. Nowadays, there are several imaging techniques: MRI (Magnetic Resonance Imaging), CT, SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography), PET-CT (Positron Emission Tomography-Computed Tomography), X-ray, and many others. The X-ray imaging technique is probably the most popular, affordable, and available worldwide [2]. The X-ray imaging may be performed with or without a contrast agent. However, to have a better resolution or differential imaging, X-ray contrast agents are required [3,4], especially for soft tissues, since X-ray imaging techniques struggle to distinguish soft tissues [5,6].

Computed tomography (CT) is a technical and complex diagnostic imaging modality also based on X-ray imaging properties [7]. In the CT, cross-sectional, high-resolution, three-dimensional diagnostic imaging is obtained using single-energy polychromatic X-rays. CT is an X-ray-based technology with an inherent limitation for soft tissue differentiation. This happens because the pixel value or CT number entirely depends on the linear attenuation coefficient (μ), which has considerable overlap between different body materials, especially in soft tissues [8]. Due to this limitation, the use of contrast is generally required. As in conventional X-ray imaging, the most used contrast agent for CT imaging is iodine. Although iodine can be considered a safe contrast agent, it has several safety issues, including severe anaphylactic shock reaction [9] and nephrotoxicity [10].

GQDs are nano-sized monolayers of graphene sheets with two-dimensional honeycomb monolayer sp^2 hybridized carbon atoms in quantum confinement [11,12]. GQDs have graphene lattices smaller than 100 nm in size and less than ten layers in thickness [13]. The ease of functionalization, water-solubility, low toxicity, and high biocompatibility of these zero-dimensional nanomaterials have greatly contributed to their applications in the biomedical field such as bioimaging, bio-sensors, and drug delivery [14]. In addition, the electronic structure of GQDs confers strong and tunable photoluminescence (PL) for fluorescence bioimaging and biosensing, as well as the ability to absorb incident radiation for photothermal and photodynamic therapy [15].

* Corresponding author at: Laboratory of Nanoradiopharmacy and Synthesis of Novel Radiopharmaceuticals, Brazil.
E-mail addresses: presidenciaradiofarmacia@gmail.com, roliveira@ien.gov.br (R. Santos-Oliveira).

<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2022.08.020>

Received 8 July 2022; Received in revised form 9 August 2022; Accepted 29 August 2022

Available online 5 September 2022

0939-6411/© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.

C. Antoine et al.
Biopharmaceutics 179 (2022) 74–78

European Journal of Pharmaceutics and

According to Zhu et al. (2017), the dominant PL mechanism of GQDs consists of the quantum confinement effect of conjugated μ -domains, the surface/edge state, and the synergistic effect of these two factors [16]. We hypothesized that those characteristics along the electron-dense structure of the GQDs might also generate X-ray and CT images. However, previous works have only reported the ability of graphene quantum dots-coated bismuth nanoparticles to improve CT imaging [17,18]. Bismuth is another electron-dense element with a high atomic number used as a contrast agent for CT [19]. In fact, the literature refers to the bismuth-based nanoparticles as the most promising X-ray CT probe due to the largest X-ray attenuation coefficient [17,20]. Finally, Shi et al.

[21] using graphene oxide (GO) doped with silver (Ag) and decorated with doxorubicin (DOX) and tumor-homing peptide containing Asn-Gly-Arg (GO@Ag-DOX-NGR) demonstrated that the compound not only served as a powerful tumor diagnostic X-ray contrast agent, but also as a strong agent for photothermal ablation of tumor. Therefore, there is a lack of reports exhibiting the application of pure GQDs as contrast agents by themselves for CT and conventional X-ray imaging, to the best of our knowledge. In this study we evaluated the graphene quantum dots (pure) as contrast agents for X-ray and CT imaging.

2. Methodology

2.1. Graphene quantum dots

The GQDs synthesis and characterization were extensively described by Menezes et al. (2019) and Haixia et al. (2021), and De Barros [22]. In brief, the GQDs were produced by an electrochemical green route, using graphite rod and platinum, respectively anode and cathode, in a buffer solution of citric acid/sodium citrate (Sigma-Aldrich, USA). The electrolyte was prepared by mixing 63.5 mL of 0.2 M citric acid with 36.5 mL of 0.2 M sodium citrate to obtain 100 mL of electrolyte. The electro-chemical process was conducted at a constant current of 190 mA for 24 h using an ICEL PS-1500 adjustable power supply. After the oxidation electrolysis, the dispersion obtained was filtered to remove large particles. The filtered suspension was dried at 60 °C to reduce the dispersion volume to 10 mL. Finally, 50 mL of ethanol was added to the dispersion, and the upper phase corresponding to purified GQDs was collected and dried at 60 °C and stored.

The characterization has been performed by Atomic Force Microscopy (AFM), Raman Spectroscopy, X-ray diffractometry (XRD), and dynamic light scattering (DLS). For the AFM analysis, the sample of GQDs was dissolved in distilled water. Then, 10 μ L of the solution was dropped in fresh cleaved mica and dried at room temperature. The measurements were made using a Multimode 8 microscope (Bruker, Santa Barbara, CA) in QNM (Quantitative Nanomechanics) mode using probes model Scanasyst Air, with a nominal spring constant of 0.4 N/m and nominal tip radius of 2 nm approximately. The analyses were performed with NanoScope Analysis 1.50 software to evaluate the particle section, and the image resolution was 256 samples per line. The size determination was performed by DLS using Zetasizer Nano ZS equip-

ment (Malvern Instruments, UK). All measurements were performed in triplicate at 25 °C with a laser incidence angle relative to the sample of 173° using a 12-mm² quartz cuvette. The Raman spectra were obtained using a Horiba-Jobin-Yvon triple spectrometer (model T64000). The instrument was equipped with a confocal attachment and a liquid-N₂- cooled charge-coupled device (CCD) detector. The excitation was produced using a green line (532.0 nm) from a solid-state laser (LAS-532-100-HREV) operating at 14 mW. The light was focused on the sample using an Olympus microscope with an MPLN 100 m objective lens. The confocal attachment limited the spot of the scattered light. The spectra were acquired in two ways: (i) at different points on the sample surface and (ii) by varying the position along the vertical direction centered on a particle. The GQDs were characterized by XRD, analysis using Bruker AXS D8 Advance diffractometer equipped with CuK α radiation and working at 40 mA/40 kV, performed at high angle ($2\theta = 15^\circ - 68^\circ$) andow angle range ($2\theta = 1.3^\circ - 8.3^\circ$). The final product of this process was the GQDs used in this study. More details of the production and characterization are available in the supplemental file.

3. Bimodal imaging

3.1. Computed Tomography

The CT attenuation properties of GQDs were evaluated in Falcon tubes at three different concentrations (100 %, 50 %, and 10 % mass/ volume of the tube) using a Siemens Somatom Emotion, CT 2014, and coronal and axial sections were performed. The parameters were: mAs fixed:220, kV:130, pitch:0.8 mm, slice:5mm (28images 5 mm/5mm), revolution:9.6, acquisition time 20.51 s, with H70 sharp FR (Lung Pa- renchyma) filter reconstruction, lung window craniocaudal direction, increment: 0.8 mm and aluminum filters 0.5.

3.2. X-ray imaging

The X-ray attenuation properties of GQDs were evaluated using RX Shimadzu 500 mA in Eppendorf. The study design was performed in three different techniques. First, we evaluated the sample in the stan- dard hand technique (mA 100, mAs 6.3, and 48kV). Secondly, we evaluated the sample in standard skull technique (mA 100, mAs 40, and 70kV). Finally, we evaluated the sample in standard spine technique (mA 100, mAs 40, and 70kV). The resolution was 35 mm; aluminum filters, 0.5 and 632.0 ms.

4. In vitro assay

4.1. Cell culture

Human gingival fibroblast (FGH) cell lines were obtained from Cell Bank of Rio de Janeiro, Brazil (0089). FGH cells were routinely main- tained in DMEM supplemented with 10 % FBS, NaHCO₃ (3.7 g/L), HEPES (5.2 g/L), penicillin (0.5 U/mL) and streptomycin (0.5 mg/mL). Cells were incubated at 37 °C in a humidified atmosphere of 5 % CO₂. Cells were grown to confluence in 75 cm² culture flasks and were de- tached by brief treatment with trypsin (0.1 %)/EDTA (0.01 %).

4.2. Cytotoxicity assay

FGH cell line (1×10^5 cells/well) were plated onto 96-well plates. Then, cells were treated in the absence (control) or presence of different concentrations of graphene quantum dots (100, 50 and 25 µg/mL) for another 24 h. After washing, the number of attached cells was deter- mined using the MTT assay as described by Helal-Neto et al [23].

4.3. Statistical analysis

The statistical analyses for multiple comparisons were performed using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Bonferroni post-test analysis. For comparisons between two groups, we used an unpaired *t*-test. We considered statistically significant differences be- tween groups with $p < 0.05$. Analyses were made using the GraphPad Prism software for Windows.

5. Results

We performed CT and X-ray imaging ([Figs. 1 and 2](#)) to evaluate our hypothesis that pure graphene quantum dots could act as a contrast agent. The generation of images by both modalities (CT and X-ray) de- pends on the concentration of contrast-generating atoms in a volume [\[11\]](#). Therefore, for a given element, no matter its size, the

attenuation should not change at the same concentration level [12]. Thus, we investigated the attenuation of the GQDs at different concentrations.

X-Ray

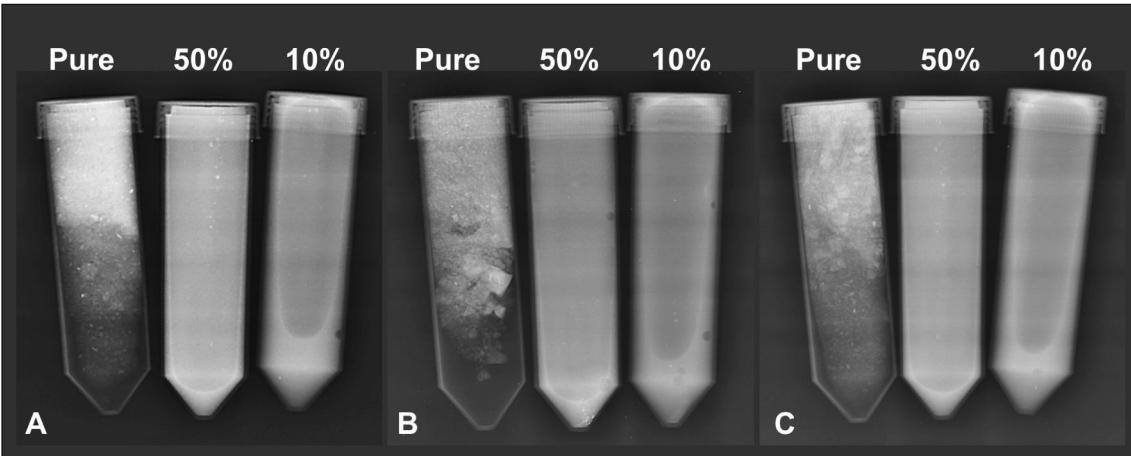


Fig. 1. X-ray imaging using different techniques. In A: standard hand technique, B standard skull, and C standard spine technique. The concentrations (mass per volume of the tube) of pure, 50 % and 10 % GQDs are 748 mg/mL, 344 mg/mL and 61 mg/mL, respectively.

CT Imaging

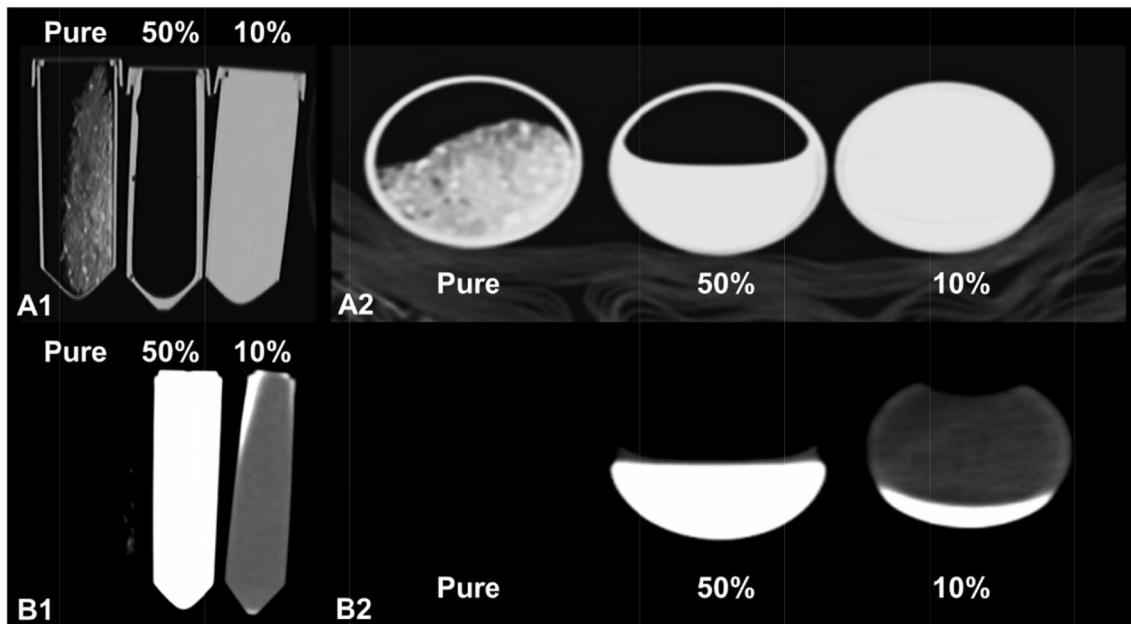


Fig. 2. CT imaging: A1: coronal section and A2 axial section. B1 and B2 axial acquisition in thick sections for the total volume. The concentrations (mass per volume of the tube) of pure, 50 % and 10 % GQDs are 748 mg/mL, 344 mg/mL and 61 mg/mL, respectively.

evaluate dose-response imaging. The samples were covered in falcon tubes. Therefore, isolated tubes are seen in the image. An increase in attenuation from low to high concentration was observed for each GQDs, as shown in Fig. 1. CT and X-ray attenuation increased when the mass concentration GQDs increased was expected. The results of the X-ray attenuation coefficient for pure, 50 %, and 10 % GQD are presented

Table 1

Results of the X-ray attenuation coefficient (μ) expressed in cm^{-1} , Hounsfield units (HU), and HU per mg/mL (HU/mM) for pure, 50% and 10% GQDs.

GQDs (mg/mL)	$\mu (\text{cm}^{-1})$	$\mu (\text{HU})$	$\mu (\text{HU}/\text{mM})$
Pure (748)	0.361	1008	1.348
50 % (344)	0.255	417	1.212
10 % (61)	0.179	-4.5	-0.074

In order to evaluate the safety of the graphene quantum dots, we have performed cytotoxicity in FGH cells. The proliferation assay is displayed in [Fig. 3](#). It is possible to observe no effect on cell proliferation even at higher concentrations.

6. Discussion

Conventional X-rays are a kind of electromagnetic radiation generated after the ejection of an inner orbital electron and the ensuing transition of atomic orbital electrons from states of high to low energy [\[24\]](#). Unlike conventional X-ray-based radiography, CT reconstructs cross-sectional anatomical images of the internal structures according to X-ray attenuation coefficients [\[25\]](#).

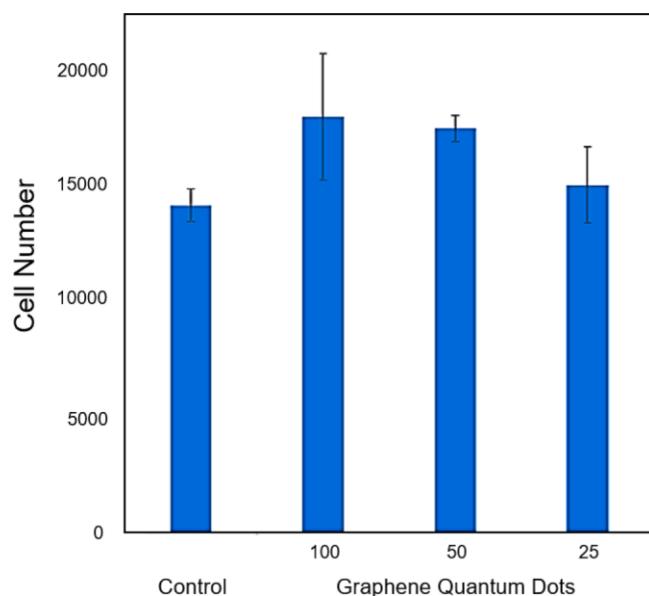


Fig. 3. Proliferation assay of FGH cells exposed to different concentrations (25, 50, and 100 $\mu\text{g/mL}$) of graphene quantum dots.

The high density of the GQDs ($\rho = 1.45 \text{ g/cm}^3$) can attenuate X-rays in both modalities [\[26,27\]](#). CT bases its measures on the absorption of X-rays distinguishing tissues based on distinct degrees of X-ray attenuation, where the attenuation coefficient depends on the tissues' atomic number and electron density. Additionally, Wang et al. [\[28\]](#) reported that due to the colloidal stability and biocompatibility of GQDs, especially in water, the nanocomposite $\text{Gd}_2\text{O}_3/\text{GQDs}$ exhibited optical properties with an MRI relaxivity ($15.995 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$) proving that $\text{Gd}_2\text{O}_3/\text{GQDs}$ could serve as an MRI contrast agent. Also, GQDs have

loads of negatively charged carboxyl groups and conjugated $\pi-\pi$ bonds, which provide electrostatic properties for diverse applications [\[19,29\]](#). In addition, graphene quantum dots are zero-dimensional carbon-rich nanomaterials with an sp^2 hybridization honeycomb structure. They may be considered electron-dense nanomaterials. Consequently, their electronic density (also delocalized in quantum confinement) might cause this work's X-ray and CT images.

However, the X-ray attenuation coefficient of our samples (pure, 50 % and 10 % GQDs) exhibited considerably lower values (1.348, 1.212, and -0.074 HU/mM) than the graphene quantum dots-coated bismuth nanoparticles (GQDs-Fe/Bi; 44.4 HU/mM) previously reported by Badrigilan et al. [\[18\]](#). These authors used a 1 mg/mL GQDs-Fe/Bi concentration that provided an X-ray attenuation of 120 HU [\[18\]](#). Furthermore, 1 mg Bi /mL in graphene quantum dots-coated bismuth nanoparticles resulted in 80 HU X-ray attenuation [\[17\]](#). According to our results, we need to use very high GQD concentrations such as 748 and 344 mg/mL to provide a higher X-ray attenuation (1008 and 417 HU). Even though our result with the high

concentration of 61 mg/mL GQDs displayed a negative value of Hounsfield units (-4.5 HU), indicating a less dense sample with less X-ray beam absorption [30].

Therefore, using graphene quantum dots as contrast agents might expand the applications of bimodal medical imaging, combining conventional X-ray and CT imaging. Nonetheless, the GQD contrast agents require remarkably high mass concentration values to exhibit a high X-ray attenuation.

Regarding safety, the *in vitro* assay demonstrated that the graphene quantum dots are not harmful in the concentrations evaluated for FGH cells. This data is corroborated by Liang et al. [31], demonstrating graphene quantum dots' safety and biocompatibility. Also, Fasbender et al. [32] stated that GQDs hardly influence the CD34+ cells on the transcriptome level after 36 h of incubation, demonstrating their high usability for *in vivo* studies. Hadad et al. [33] have demonstrated the safety of GQDs, including no renal effect during the clearance process. Finally, De Barros et al. [22], have demonstrated that only at very high concentrations GQDs can impact the microcirculation *in vivo*.

7. Conclusion

The use of graphene quantum dots as a biomedical device is increasing, especially due to their safety and practicality. Our data demonstrated that graphene quantum dots at concentrations of up to 100 µg/mL presented no cytotoxicity in FGH cells. Regarding the aging process, the results demonstrated that graphene quantum dots are able to attenuate X-rays and form contrast images in both modalities: X-ray and Computed Tomography. The isolated use of graphene quantum dots as contrast agent may represent a new use of this material in the biomedical or industrial field.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Data availability

Data will be made available on request.

Acknowledgments

This study was funded by Carlos Chagas Filho Foundation for Research Support of Rio de Janeiro State (FAPERJ) (Cientista do Nosso Estado: E-26/200.815/2021; Rede NanoSaude: E-26/010.000981/ 2019, Pesquisa na UEZO: E-26/010.002362/2019; Temáticos: E-26/ 211.269/2021, Infraestrutura e Pesquisa na UEZO e UERJ: E-26// 211.207/2021, Bolsa de Pós-doutorado Senior (PDS): E-26/202.320/ 2021) CNPq (Bolsa de Produtividade 1B: 301069/2018-2) to Ralph Santos-Oliveira.

Appendix A. Supplementary material

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2022.08.020>.

References

- [1] J.C. Hsu, L.M. Nieves, O. Betzer, T. Sadan, P.B. Noe, R. Popovtzer, D.P. Cormode, Nanoparticle contrast agents for X-ray imaging applications, *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* 12 (2020), e1642.
- [2] D. Pfeiffer, F. Pfeiffer, E. Rummery, Advanced X-ray imaging technology, *Recent Results Can. Res.* 216 (2020) 3–30.
- [3] J.C. De La Vega, P.L. Esquinas, J.K. Gill, S. Jessa, B. Gill, Y. Thakur, K. Saatchi, U. O. H'afeli, Comparison of rhenium and iodine as contrast agents in X-ray imaging, *Contrast Media Mol. Imaging* 2021 (2021) 1250360.
- [4] H. Lusic, M.W. Grinstaff, X-Ray-computed tomography contrast agents, *Chem. Rev.* 113 (2013) 1641–1666.
- [5] W.A. Bowman, J.L. Robar, M. Sattariwand, Optimizing dual-energy X-Ray parameters for the exactrac clinical stereoscopic imaging system to enhance soft-tissue imaging, *Med. Phys.* 44 (2017) 823–831.
- [6] R. Behling, X-ray sources: 125 years of developments of this intriguing technology, *Phys. Med.* 79 (2020) 162–187.
- [7] E. Seeram, Computed tomography: a technical review, *Radiol. Technol.* 89 (2018) 279CT–302CT.
- [8] H.W. Goo, J.M. Goo, Dual-energy CT: new horizon in medical imaging, *Korean J. Radiol.* 18 (2017) 555–569.
- [9] Z. Huang, H. Zhang, Y. Wang, W. Yang, S. Qiao, F. Hu, Clinical characteristics and management of iodine contrast media-related anaphylactic shock during cardiac catheterization, *World Allergy Organ. J.* 13 (2020), 100459.
- [10] A. Heshmatzadeh Behzadi, Z. Faroog, J.H. Newhouse, M.R. Prince, MRI and CT contrast media extravasation, *Medicine (Baltimore)* 97 (2018), e0055.
- [11] F.D. de Menezes, S.R.R. dos Reis, S.R. Pinto, F.L. Portilho, F. do Vale Chaves e Mello, E. Helal-Neto, A.O. da Silva de Barros, L.M.R. Alencar, A.S. de Menezes, C.C. dos Santos, A. Saraiva-Souza, J.A. Perini, D.E. Machado, I. Felzenswalb, C.F. Araujo-Lima, A. Sukhanova, I. Nabiev, R. Santos-Oliveira, Graphene quantum dots: unraveling green synthesis, characterization, radiolabeling with 99mTc, *in vivo* behavior and mutagenicity, *Mater. Sci. Eng.: C* 102 (2019) 405–414.
- [12] J. Lin, Y. Huang, P. Huang, Chapter 9 - Graphene-Based Nanomaterials in Bioimaging. In: *Biomedical Applications of Functionalized Nanomaterials*; In: B. Sarmento, B. das Neves (Eds.), *Micro and Nano Technologies*, Elsevier, 2018, p. 247–287.
- [13] D. Wang, J.-F. Chen, L. Dai, Recent advances in graphene quantum dots for fluorescence bioimaging from cells through tissues to animals, *Part. Part. Syst. Char.* 32 (2015) 515–523.

- [14] T.M. Magne, T. de Oliveira Vieira, L.M.R. Alencar, F.F.M. Junior, S. Gemini- Piperni, S.V. Carneiro, L.M.U.D. Fechine, R.M. Freire, K. Golokhvast, P. Metrangolo, P.B.A. Fechine, R. Santos-Oliveira, Graphene and its derivatives: understanding the main chemical and medicinal chemistry roles for biomedical applications, *J. Nanostruct. Chem.* (2021) 1–35.
- [15] S. Chung, R.A. Revia, M. Zhang, Graphene quantum dots and their applications in bioimaging, biosensing, and therapy, *Adv. Mater.* 33 (2021) 1904362.
- [16] S. Zhu, Y. Song, J. Wang, H. Wan, Y. Zhang, Y. Ning, B. Yang, Photoluminescence mechanism in graphene quantum dots: quantum confinement effect and surface/ edge state, *Nano Today* 13 (2017) 10–14.
- [17] S. Badriqilan, B. Shaabani, N.G. Aghajii, A. Mesbahi, Graphene quantum dots- coated bismuth nanoparticles for improved CT imaging and photothermal performance, *Int. J. Nanosci.* 19 (2020) 1850043.
- [18] S. Badriqilan, B. Shaabani, N. Gharehaghaji, A. Mesbahi, Iron oxide/bismuth oxide nanocomposites coated by graphene quantum dots: “three-in-one” theranostic agents for simultaneous CT/MR imaging-guided *in vitro* photothermal therapy, *Photodiagn. Photodyn. Ther.* 25 (2019) 504–514.
- [19] J. Lin, X. Chen, P. Huang, Graphene-based nanomaterials for bioimaging, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 105 (2016) 242–254.
- [20] H. Bi, F. He, Y. Dong, D. Yang, Y. Dai, L. Xu, R. Lv, S. Gai, P. Yang, J. Lin, Bismuth nanoparticles with “light” property served as a multifunctional probe for X-ray computed tomography and fluorescence imaging, *Chem. Mater.* 30 (2018) 3301–3307.
- [21] J. Shi, L. Wang, J. Zhang, R. Ma, J. Gao, Y. Liu, C. Zhang, Z. Zhang, A Tumor- targeting near-infrared laser-triggered drug delivery system based on GO@Ag nanoparticles for chemo-photothermal therapy and X-ray imaging, *Biomaterials* 35 (2014) 5847–5861.
- [22] A.O. da S. Barros, E. Ricci-Junior, J.X. Pereira, K. Pikula, K. Golokhvast, A.C. Manahæs, P.F.N. Souza, L.M.R. Alencar, E. Bouskela, R. Santos-Oliveira, Highdoses of graphene quantum dots impacts on microcirculation system: an observational study, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 176 (2022) 180–187.
- [23] E. Helal-Neto, A.O.D.S. de Barros, R. Salданha-Gama, R. Branda o-Costa, L.M. R. Alencar, C.C. Dos Santos, R. Martínez-M'anez, E. Ricci-Junior, F. Alexis, V. Morandi, C. Baria-Fidalgo, R. Santos-Oliveira, Molecular and cellular risk assessment of healthy human cells and cancer human cells exposed to nanoparticles, *Int. J. Mol. Sci.* 21 (1) (2019) 1–23.
- [24] R. Jenkins, X-ray techniques: overview. in: *encyclopedia of analytical chemistry*, R. A. Meyers (Ed.), John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK, 2006, p. a6801.
- [25] H. Jung, Basic physical principles and clinical applications of computed tomography, *Kor. Soc. Med. Phys.* 32 (2021) 1–17.
- [26] D. Luo, X. Wang, C. Burda, J.P. Basilion, Recent development of gold nanoparticles as contrast agents for cancer diagnosis, *Cancers (Basel)* 13 (2021) 1825.
- [27] H.C. Nguyen, N.T.T. Nguyen, V.L. Nguyen, On the density of states of circular graphene quantum dots, *J. Phys.: Condens. Matter* 29 (2017), 405301.
- [28] F.H. Wang, K. Bae, Z.W. Huang, J.M. Xue, Two-photon graphene quantum dot modified Gd₂O₃ nanocomposites as a dual-mode MRI contrast agent and cell labelling agent, *Nanoscale* 10 (2018) 5642–5649.
- [29] M. Kortel, B.D. Mansuriya, N. Vargas Santana, Z. Altintas, Graphene quantum dots as flourishing nanomaterials for bio-imaging, therapy development, and micro-supercapacitors, *Micromachines (Basel)* 11 (2020) 866.
- [30] T.D. DenOtter, J. Schubert, Hounsfieeld Unit. In: StatPearls; StatPearls Publishing: Treasure Island (FL), 2022.
- [31] L. Liang, X. Peng, F. Sun, Z. Kong, J.-W. Shen, A Review on the Cytotoxicity of Graphene Quantum Dots: From Experiment to Simulation, *Nanoscale Adv.* 3 (2021) 904–917.
- [32] S. Fasbender, L. Zimmermann, R.-P. Cadeddu, M. Luysberg, B. Moll, C. Janiak, T. Heinzel, R. Haas, The low toxicity of graphene quantum dots is reflected by marginal gene expression changes of primary human hematopoietic stem cells, *Sci. Rep.* 9 (2019) 12028–12040.
- [33] C. Hadad, J.M. González-Domínguez, S. Armelloni, D. Mattinzoli, M. Ikehata, A. Istif, A. Ostric, F. Cellesi, C.M. Alfieri, P. Messa, B. Ballesteros, T.D. Ros, Graphene quantum dots: from efficient preparation to safe renal excretion, *Nano Research* 14 (2020) 3 674–683.