

# Magnetic Graphene Quantum Dot/Chitosan Bionano-composite Hydrogel Beads for Drug Delivery System: Synthesis and Application

Hossein Poursadegh, Mehdi Barzegarzadeh, Mohammad Sadegh Amini-Fazl\*

Advanced Polymer Material Research Laboratory, Department of Applied Chemistry,  
Faculty of Chemistry, University of Tabriz, Postal Code 5166616471, Tabriz, Iran

Received: 27 August 2023, accepted: 4 November 2023

## ABSTRACT

**Hypothesis:** In recent years, scientists and researchers have been looking for new and advanced materials for use in various fields, including drug delivery and biotechnology. One of the attractive materials that has been considered in this field is chitosan-based bionanocomposite hydrogel beads. Chitosan-based bionanocomposite hydrogel beads have attracted attention as carriers in drug delivery systems due to their inherent properties such as excellent biocompatibility, high swelling, and high storage capacities.

**Methods:** First graphene quantum dots (GQDs) were prepared by the pyrolysis method, and then their magnetic properties were obtained using iron nanoparticles (MGQD). Next they were coated with chitosan hydrogel (CS-MGQD) and finally loaded with methotrexate (MTX/CS-MGQD). This unique combination of the properties of chitosan hydrogel, the magnetic properties of graphene quantum dots, and the ability to adjust drug release has been able to create an important milestone in the field of drug delivery research and the compatibility of drugs with the biological environment. Through various analyses, including FTIR to analyze the spectra of the functional groups, XRD to identify the crystal structure, and SEM to examine the morphology of the samples, the success of the synthesis and formation of the desired compound was confirmed.

**Findings:** The fabricated CS and CS-MGQD hydrogel beads were loaded with about 84% and 64% MTX, respectively. The results of the swelling behavior and drug release behavior showed that the hydrogel beads experience pH-dependent swelling and release of MTX. In addition, investigating the effect of MGQD concentration on swelling behavior and drug release showed that CS-MGQD has favorable stability and controllable drug release in an acid environment. Also, the Weibull kinetic model was found to be the best-fitting model for the release of MTX from CS-MGQD at pH 5. These findings suggest that the prepared magnetic bionanocomposite hydrogel beads have a good potential for pH-sensitive implantable drug delivery in the treatment of cancerous tissue.

## Keywords:

bionanocomposite,  
hydrogel beads,  
chitosan.  
magnetic graphene  
quantum dot,  
drug delivery

(\* )To whom correspondence should be addressed.

E-mail: ms.amini@tabrizu.ac.ir

## Please cite this article using:

Poursadegh H., Barzegarzadeh M., Amini-Fazl M., Magnetic Graphene Quantum Dot/Chitosan Bionanocomposite Hydrogel Beads for Drug Delivery System: Synthesis and Application, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **36**, 409-420, 2023.

# ستز و کاربرد دانه‌های هیدروژل زیستنانوکامپوزیت نقطه کوانتمی گرافن مغناطیسی-کیتوسان برای سامانه دارورسانی

دسترس پذیر در نشانی: <http://jips.ippi.ac.ir>

حسین پورصادق، مهدی برزگرزاده، محمدصادق امینی فضل\*

تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده شیمی، گروه شیمی کاربردی، آزمایشگاه تحقیقات مواد پلیمری پیشرفته،  
کد پستی ۵۱۶۶۶۱۶۴۷۱

دریافت: ۱۴۰۲/۹/۱۳، پذیرش: ۱۴۰۲/۹/۵

مجله علوم و تکنولوژی پلیمر،

سال سی و ششم، شماره ۴۰،

صفحه ۱۴۰۲، ۴۰۹-۴۲۰

ISSN: 1016-3255

Online ISSN: 2008-0883

DOI: 10.22063/JIPST.2023.3484.2262

## چکیده

**فرضیه:** در سال‌های اخیر دانشمندان و پژوهشگران به دنبال مواد جدید و پیشرفت‌های برای استفاده در زمینه‌های مختلف از جمله دارورسانی و زیست‌فناوری بوده‌اند. یکی از مواد جالبی که در این زمینه مورد توجه قرار گرفته است، دانه‌های هیدروژل زیستنانوکامپوزیت بر پایه کیتوسان است. دانه‌های هیدروژل زیستنانوکامپوزیت بر پایه کیتوسان به دلیل داشتن ویژگی‌های ذاتی مانند زیست‌سازگاری عالی، تورم زیاد و ظرفیت‌های ذخیره‌سازی زیاد، توجه‌ها را به عنوان حامل در سامانه‌های دارورسانی جلب کرده‌اند.

**روش‌ها:** در این پژوهش، ابتدا نقطه کوانتمی گرافن (GQD) به روش تجزیه گرمایی تهیه شد و پس از آن با استفاده از نانوذرات آهن خاصیت مغناطیسی پیدا کرد (MGQD)، در ادامه با هیدروژل پلیمری کیتوسان پوشش یافت (CS-MGQD) و سپس داروی متوترکسات (MTX) در آن بارگذاری شد (MTX/CS-MGQD). این ترکیب با خواص منحصر به فرد هیدروژل کیتوسان، خواص مغناطیسی نقاط کوانتمی گرافن و قابلیت تنظیم رهایش دارو توانست نقطه عطف مهمی در زمینه پژوهش‌های دارورسانی و سازگاری داروها با محیط‌زیست ایجاد کند. ستز و تشکیل ترکیب مدنظر به کمک آزمون‌های مختلف از جمله FTIR برای شناسایی گروه‌های عاملی، XRD برای شناسایی ساختار بلوری و SEM برای بررسی شکل‌شناختی نمونه، تأیید شد.

**یافته‌ها:** حدود ۸۴٪ از CS-MGQD بهترین مدل در دانه‌های هیدروژل و CS-MGQD دارای رهایش MTX را نشان دادند. افزون بر این، CS-MGQD حساسیت به رفتار رهایش دارو، دانه‌های هیدروژل تورم وابسته به pH و رهایش MTX نشان دادند. افزون بر این، CS-MGQD حساسیت به رفتار تورم و رهایش دارو نشان داد که دارای ثبات مطلوب و رهایش دارو قابل کنترل در محیط اسیدی است. همچنین، مدل سینتیکی Weibull بهترین مدل برای رهایش MTX (متوترکسات) از CS-MGQD در pH برابر ۵ بود. این یافته‌ها نشان می‌دهد، دانه‌های هیدروژل زیستنانوکامپوزیت مغناطیسی تهیه شده قابلیت خوبی برای دارورسانی قابل کاشت حساس به pH در درمان بافت سرطانی دارند.

## واژه‌های کلیدی

زیستنانوکامپوزیت،

دانه‌های هیدروژل،

کیتوسان،

نقطه کوانتمی گرافن مغناطیسی،

سامانه دارورسانی

\* مسئول مکاتبات، پیام‌نگار:  
ms.amini@tabrizu.ac.ir

## مقدمه

نانوساختاری دو برتری شایان توجه را ارائه می‌دهد. اول اینکه، زیست‌سازگاری را تضمین می‌کند و آن را برای استفاده در زمینه‌های زیست‌پژوهشی سازگار می‌کند. دوم اینکه، تحويل دقیق دارو به مکان‌های تعیین شده را به کمک میدان مغناطیسی خارجی امکان‌پذیر می‌کند [۱۳-۱۶]. افزون بر این، نانوذرات آهن اکسید به دلیل سطح زیاد و برهمنکش دوقطبی-دوقطبی در محلول آبی تجمع می‌یابند که ظرفیت تحويل دارو را کاهش می‌دهد [۱۷، ۱۸]. برای غلبه بر این مشکل، از نانوذرات نقطه کوانتمی گرافن به عنوان لایه محافظ و تثبیت‌کننده برای جلوگیری از تماس مستقیم میان نانوذرات آهن اکسید استفاده می‌شود. نقاط کوانتمی گرافن (GQDs) با خواص منحصر به‌فردی مانند پایداری شیمیایی، سازگار با محیط‌زیست، زیست‌سازگاری زیاد، سمیت کم، نورتابی و خواص پایداری گرمایی و مکانیکی عالی اخیراً در زمینه دارورسانی مورد توجه قرار گرفته‌اند [۱۹، ۲۰]. افزون بر این ویژگی‌ها، گنجاندن نقطه کوانتمی مغناطیسی گرافن (MGQD) در دانه‌های کیتوسان می‌تواند به حالت پیوسته‌تر و آهسته رهش داروها منجر شود. اخیراً مطالعاتی انجام شده است که ترکیب نقاط کوانتمی گرافن با کیتوسان را انتخاب مناسبی برای رهاش کنترل‌شده دارو معرفی کرده‌اند [۲۱، ۲۲]. داروی متوترکسات (MTX) معمولاً به عنوان داروی ضدسرطان نسل اول برای انواع مختلف سرطان‌ها از جمله تومور بدخیم استخوانی (osteosarcoma)، سرطان خون (leucémie)، سرطان دهانه رحم و سینه و بدخیمی‌های خون و نیز برای درمان روماتیسم مفصلی (rheumatoid arthritis) تجویز می‌شود [۲۳، ۲۴]. در حالی که کاربرد بالینی MTX در درمان سرطان به طور گسترده مستند شده است، تجویز خوراکی آن اغلب به دلیل چالش در سیستیک دارویی (pharmacokinetics)، عوارض جانبی شایان توجه، حساسیت به مقاومت دارویی بیمار و نیاز به دُزهای زیاد محدود می‌شود [۲۵، ۲۶]. برای حل مشکل بیان شده با تحويل خوراکی MTX، راه حل جدیدی ارائه شده است که در آن دارو درون دانه‌های هیدروژل زیست‌سازگار متتشکل از پلیمرها کپسول دار می‌شود [۲۷]. بنابراین، در مطالعه حاضر، داروی مدل در نانوکامپوزیت MGQD (MTX/CS-MGQD) بارگذاری شد.

پژوهش حاضر شامل تهیه کامپوزیت هیدروژل کیتوسان با افزودن MGQD برای کاربرد به عنوان حامل دارویی حساس به pH بود. هیدروژل زیست‌نانونوکامپوزیتی با استفاده از محلول NaOH به‌هم متصل شد و سپس دانه‌های هیدروژل کیتوسان دارای MTX بارگذاری شد. عملکرد تحويل دارو با آزمایش‌های متتمرکز بر کپسول دارکردن و رهایش دارو در شرایط آزمایشگاهی ارزیابی شد. افزون بر این، در مطالعه حاضر اثر MGQD بر رفتار تورم و رهایش دارو بررسی شد.

سرطان بیماری پیچیده و با انواع متنوع است که می‌تواند کشنده و ناتوان کننده باشد. رویکردهای اولیه استفاده شده برای درمان سرطان معمولاً شامل ترکیبی از روش‌های مختلف مانند جراحی، پرتو درمانی، شیمی درمانی، ایمنی درمانی، درمان هدفمند و هورمون درمانی است [۲، ۱]. رساندن داروها به مکان مناسب در تومورها چالش بزرگ در تلاش برای بهبودی بلندمدت و درمان بوده است. پژوهشگران درباره یافتن راه‌هایی برای افزایش غلظت عوامل درمانی در تومورها به منظور بهبود نتایج درمان تمرکز کرده‌اند. سامانه‌های دارورسانی نقش مهمی در بهبود اثربخشی داروها، کاهش عوارض جانبی ناخواسته و اطمینان از تحويل ایمن داروها دارند [۳، ۴]. مقادیر pH در شرایط مختلف بیماری مانند عفونت‌ها، کم خونی موضعی (ischemia)، التهاب‌ها و سرطان‌ها و نیز در بافت‌ها یا اندام‌های مختلف به طور شایان توجهی متفاوت است. در سال‌های اخیر، از چندین سامانه پلیمری هوشمند پاسخگو به pH، به طور گسترده به عنوان حامل برای سامانه‌های دارورسانی استفاده شده است [۵-۷]. کیتوسان (CS) یکی از فراوان‌ترین زیست‌پلیمر طبیعی است که به دلیل خواص مفیدی مانند تقویت‌کننده ایمنی، سمی‌بودن، سمی‌بودن به H<sub>2</sub>S، زیست‌تخربی‌پذیری، ضدقارچ، ضدزخم و ضداسیدبودن و داشتن فعالیت‌های ضدتوموری و نیز به عنوان حامل مناسب در سامانه‌های دارورسانی به طور گسترده استفاده می‌شود. کیتوسان به شکل دانه‌های هیدروژل ساختار شبکه‌ای سه‌بعدی است که قابلیت جذب مقادیر زیادی آب را دارد و در رهش کنترل‌شده دارو توجه بسیاری را جلب کرده است. با وجود این، استحکام مکانیکی کم دانه‌های هیدروژل کیتوسان، کاربرد دانه‌های کیتوسان را به عنوان حامل در سامانه‌های دارورسانی محدود می‌کند [۸]. برای غلبه بر این مشکلات، استفاده از نانوذرات شامل سیلیکون یا مواد کربنی [۴، ۹]، نقطه کوانتمی گرافن [۱۰]، گرافن اکسید [۱۱] و اکسید آهن می‌تواند پایداری دانه‌های کیتوسان را افزایش دهد و نحوه رهایش داروها را پیوسته‌تر و کنترل کند [۱۲].

در سال‌های اخیر، پژوهش‌های گسترده‌ای درباره استفاده از نانوذرات آهن اکسید (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) به عنوان حامل در سامانه‌های دارورسانی انجام شده است. این علاقه از خواص شیمیایی و فیزیکی متمایز آن‌ها، از جمله تخریب‌پذیری، امکان هدفمندسازی نانوکامپوزیت، بازیافت‌پذیری عالی، مغناطیسی بودن، نداشتن سمیت یاخته‌ای، زیست‌سازگاری، پایداری شیمیایی زیاد، مقرون به صرفه بودن در تولید، سطح واکنش‌پذیری، سستز آسان و عملکرد همه‌کاره ناشی می‌شود. مطالعات اخیر نشان می‌دهد، ادغام خواص مغناطیسی و

## تجربی

### مواد

کیتوسان (CS) از دانشگاه مراغه در آذربایجان شرقی ایران خریداری شد. شرکت شیمیایی Merck تأمین‌کننده آهن (II) کلرید ( $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), آهن (III) کلرید ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), سدیم هیدروکسید ( $\text{NaOH}$ ), آمونیاک ( $\text{NH}_3$ ), استیک اسید، سیتریک اسید، اتانول، سدیم استات و مونوتیاسیم فسفات ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) بود که همگی با خلوص مناسب تهیه شدند. متوترکسات (MTX) از شرکت Cipla India تهیه شد. تمام حلال‌ها و سایر مواد استفاده شده محصول شرکت Merck بودند.

### دستگاه‌ها

در این پژوهش، طیف‌سنج زیرقرمز تبدیل فوریه (FTIR) Bruker UV-Vis Analytik Jena مدل Tensor27 ساخت آلمان، دستگاه Specord 250 (ongda) ساخت آلمان، پراش‌سنج پرتو X مدل TD-3700 (Specord 250) ساخت چین با محدوده پویش  $10^{\circ}\text{C}$ - $70^{\circ}\text{C}$  در دمای معمولی و میکروسکوپ الکترونی پویشی TESCA ساخت جمهوری چک به کار گرفته شد. طیف FTIR با تهیه قرص‌های KBr در محدوده  $400\text{-}3700\text{ cm}^{-1}$  ثبت شد. تصاویر SEM نیز در  $30\text{ kV}$  گرفته شد. بررسی تجربی مغناطیسی با مغناطیسی‌سنج نمونه ارتعاشی VSM، ساخت مگنت کویر اردبیل، در میدان مغناطیسی  $12500\text{ Oe}$  تا  $12500\text{ Oe}$ -در دمای معمولی انجام شد.

### روش‌ها

#### سنتر نانوذرات آهن

برای سنتر نانوذرات  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , ابتدا محلول دارای  $2\text{ g}$  از  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  و  $1\text{ g}$  از  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  تهیه و به مدت  $20\text{ min}$  در آب هم‌زده شد. در مرحله بعد، محلول در دمای  $80^{\circ}\text{C}$  در جو نیتروژن گرم شد و  $5\text{ mL}$   $\text{NH}_3$  از  $30\text{ min}$  به تدریج اضافه شد تا محیط واکنش مدنظر ایجاد شود. پس از  $28\text{ min}$  نانوذرات آهن تشکیل شده با استفاده از میدان مغناطیسی خارجی جداشده و با آب مقطّر شسته شدند [۲۸].

#### سنتر نانوذرات نقاط کوانتوسی

نقاط کوانتوسی گرافن (GQD) به روش تجزیه گرمایی سنتر شد. به طور خلاصه،  $2\text{ g}$  سیتریک اسید در دمای  $200^{\circ}\text{C}$  به مدت  $20\text{ min}$  گرمایی داده شد تا محلول نارنجی رنگ حاصل شود. سپس، مایع نارنجی رنگ حاصل به تدریج به  $200\text{ mL}$  محلول سدیم هیدروکسید  $0.25\text{ Molar}$  اضافه شد. در نهایت، رسوب با استفاده از تبخیرکن چرخان (rotary evaporator) از محلول جدا و با خشک کن انجام‌دادی خشک شد [۲۹].

## سنتر نانوذرات نقاط کوانتوسی گرافن مغناطیسی (MGQD)

$2\text{ g}$  آهن اکسید در  $100\text{ mL}$  محلول دارای  $(\text{GQD})$  با فرماحت دهی پراکنده شد. مخلوط حاصل به مدت  $12\text{ h}$  در دمای محیط هم‌زده شد. رسوب با استفاده از آهن‌ربای خارجی از محلول جدا شد و بارها با آب مقطّر به طور مداوم شسته شو داده شد. در نهایت، محصول درون آون به مدت  $24\text{ h}$  با دمای  $50^{\circ}\text{C}$  خشک شد [۳۰].

**تهیه دانه‌های هیدروژل زیست‌نافوکامپوزیت CS و CS-MGQD** نانوکامپوزیت‌های بر پایه دانه‌های هیدروژل (CS-MGQD و CS) طبق روش‌های گزارش شده پیشین سنتر شدند [۳۱]. به طور خلاصه،  $1\text{ g}$  از CS و  $0.015\text{ g}$  از MGQD به  $40\text{ mL}$  استیک اسید آبی  $2/5\text{ v/v}$  اضافه و مخلوط شد. هم‌زدن تا زمانی ادامه یافت که محلول یکنواخت شفافی به دست آید. سپس، محلول‌ها به شکل قطره به محلول آبی ( $100\text{ mL}$ ) دارای  $(10\text{ g})$   $\text{NaOH}$  در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  اضافه شد تا دانه‌های هیدروژل CS-MGQD و CS تشکیل شود. سپس، دانه‌ها با آهن‌ربای خارجی جدا شده و با آب مقطّر شسته و در دمای  $50^{\circ}\text{C}$  خشک شدند.

### مطالعه تورم

خصوص تورم دانه‌ها با روش غوطه‌وری بررسی شد. دانه‌های هیدروژل از نظر تورم در دو محلول بافر با  $\text{pH} = 7/4$  و  $5\text{ آزمایش}$  شدند. برای انجام آزمایش،  $10\text{ mg}$  از هیدروژل‌ها وزن شده و در  $2\text{ mL}$  از محلول‌های بافر در دمای معمولی غوطه‌ور شدند. سپس، دانه‌های متورم در فواصل زمانی مشخص از محلول بافر جدا شدند و آب جذب شده روی سطح دانه‌ها با کاغذ صافی خارج شد و بلا فاصله نمونه‌ها وزن شدند. درصد تورم نمونه‌ها از معادله (۱) محاسبه شد:

$$\text{Swelling rate} = \frac{(W_s - W_d)}{W_d} \times 100 \quad (1)$$

$W_s$  و  $W_d$  به ترتیب وزن نمونه‌ها پس از تورم در زمان مشخص و وزن نمونه‌های خشک شده اولیه است.

### بررسی مقدار کاهش وزن

مقدار کاهش وزن‌ها طبق کارهای پیشنهادی بررسی شد [۲۹، ۳۲]. برای تعیین مقدار کاهش وزن هیدروژل‌ها ( $10\text{ mg}$  pH=۵ قرار داده شدند. سپس، محلول بافر جدا شد و آب جذب شده روی سطح دانه‌ها با کاغذ صافی خارج شد. هیدروژل دانه‌ها به مدت  $24\text{ h}$  در دمای  $45^{\circ}\text{C}$  خشک شد. مقدار

رهایش MTX با نرم‌افزار Mathcad مدل‌سازی شد. از پنج مدل سیستیکی سنتی برای ارزیابی سازوکارهای آزادسازی MTX استفاده شد که معادله‌های این مدل‌ها در جدول ۱ است. در این معادلات، MTX آزادشده،  $Q_0$  مقدار اولیه MTX آزادشده در زمان  $t$ ،  $k_{d1}$  ثابت مرتبه اول،  $k_{d2}$  ثابت مرتبه صفر،  $K_n$  نشان‌دهنده  $n$  آرامش رهایش ثابت و  $n$  توان رهایش است. در مدل  $k_b$  در حالی که  $k_b$  متناسب با مقدار رهایش انفجاری اولیه است و مقدار  $k_b$  بیشتر مربوط به رهایش انفجاری اولیه بزرگ‌تر است.

## نتایج و بحث

در شکل ۱ نتایج FTIR مربوط به CS-MGQD و MGQD نشان داده شده است. در طیف CS، پیک پهن در  $3434\text{ cm}^{-1}$  به ارتعاش کشنی گروه‌های  $\text{OH}$ - و  $\text{NH}_2$ - نسبت داده شد. پیک‌های ارتعاش کشنی گروه‌های  $\text{OH}$ - و  $\text{NH}_2$ - را می‌توان به ترتیب به ارتعاش خمی گروه  $\text{C=O}$  و کشنی گروه آمید  $\text{C=O}$  اختصاص داد (از آنجا که کیتوسان از کیتین تولید می‌شود، گروه آمید به کیتین مربوط بود که به عنوان ناخالصی در کیتوسان موجود است) [۳۳، ۳۴]. در طیف MGQD ارتعاش کشنی C-H متقارن در محدوده  $1390\text{ cm}^{-1}$  و ارتعاش کشنی C-H در  $2950\text{ cm}^{-1}$  شناسایی شد. در واقع، ارتعاش اسکلتی حلقه‌های آروماتیک در حدود  $1390\text{ cm}^{-1}$  تا  $1600\text{ cm}^{-1}$  و ارتعاش کشنی C-H حلقه‌های آروماتیک حدود  $2850\text{ cm}^{-1}$  تا  $3000\text{ cm}^{-1}$  مشاهده شد و یک پیک تیز دیگر در  $589\text{ cm}^{-1}$  دیده شد که به ارتعاش کشنی Fe-O نسبت داده می‌شود و قله پهن در  $3452\text{ cm}^{-1}$  به ارتعاش‌های کشنی OH مربوط می‌شود [۳۵]. همان‌طور که انتظار می‌رفت، برای دانه‌های هیدروژل زیست‌نانوکامپوزیت CS-MGQD تقریباً تمام پیک‌های CS و MGQD با یک تغییر شایان توجه دیده می‌شوند که ممکن است، به برهم‌کنش الکتروستاتیک بین مولکولی میان CS و MGQD مربوط باشد.

نتایج XRD برای نمونه‌های CS-MGQD، MGQD، CS در شکل ۲ نشان داده شده است. در تحلیل XRD نمونه CS، پیک‌های ۲۰ در  $10/85$  و  $20/20$  به ترتیب به صفحه‌های بلوری (۰۰۲)، (۱۱۰) و (۱۰۰) تعلق دارند [۳۶]. الگوی پراش MGQD پیک‌های پراش را در  $20$  برابر  $26$ ،  $30/25$ ،  $35/7$ ،  $43$ ،  $57/5$  و  $63^{\circ}$  نشان می‌دهد که به ترتیب با صفحه‌های بلوری (۰۰۲)، (۱۱۰)، (۲۲۰)، (۳۱۱)، (۴۰۰)، (۴۴۰) و (۵۱۱) مطابقت دارد [۳۷]. در الگوی پراش CS-MGQD اکثر پیک‌های

کاهش وزن نمونه‌ها از معادله (۲) محاسبه شد:

$$\text{Weight loss (\%)} = \frac{(w_i - w_t)}{w_i} \times 100 \quad (2)$$

در این معادله،  $w_i$  مقدار وزن اولیه دانه‌ها و  $w_t$  مقدار وزن دانه‌های خشک‌شده است.

## نحوه محاسبه مقدار داروی بارگذاری شده در حامل‌ها

برای بارگذاری دارو در نانوکامپوزیت‌ها، ابتدا  $25\text{ mg}$  از هر نمونه  $\text{mL}$  نانوکامپوزیت در داخل یک ویال پلاستیکی قرار گرفت. سپس،  $25\text{ mL}$  از داروی MTX با غلظت  $100\text{ ppm}$  به نانوکامپوزیت افزوده شد و به مدت ۱ روز در دمای معمولی مخلوط شد. سپس، نانوکامپوزیت‌ها از محلول دارو جدا شده و در دمای معمولی خشک شدند. برای تعیین مقدار داروی بارگذاری شده در نانوکامپوزیت‌ها، از دستگاه UV-Vis برای اندازه‌گیری جذب محلول رویی دارو پس از انجام فرایند بارگذاری با طول موج بیشینه دارو استفاده شد. سپس، به کمک منحنی کالیبره کردن دارو، مقدار جذب اندازه‌گیری شده به غلظت تبدیل شد. با درنظر گرفتن حجم محلول استفاده شده، مقدار داروی بارگذاری نشده (به میلی‌گرم) و سپس مقدار داروی بارگذاری شده از معادله (۳) محاسبه شد:

$$\text{MTX loading (\%)} = \frac{\text{Amount of MTX in nanocarrier (g)}}{\text{Amount of initial MTX (g)}} \times 100 \quad (3)$$

## بررسی رهایش دارو در شرایط آزمایشگاهی

برای بررسی چگونگی رهش دارو در اثر تغییر pH،  $10\text{ mg}$  هیدروژل بارگذاری شده با دارو در  $10\text{ mL}$  باfer در دو  $\text{pH}$  ۷/۴ و ۵ غوطه‌ور شد. در فواصل زمانی مشخص،  $2\text{ mL}$  از محلول آبی دارای دارو برداشته شد و با بافر تازه جایگزین شد. مقدار رهایش تجمعی با مقایسه داده‌های جمع‌آوری شده به کمک دستگاه UV-Vis کالیبره کردن برای هر دو محیط بافر با محدوده غلظتی  $1/25$ ،  $3/125$ ،  $1/25$ ،  $5/50$  و  $100\text{ ppm}$  از پیش تعیین شده برای دارو ثبت شد. مقدار داروی آزادشده از معادله (۴) محاسبه شد:

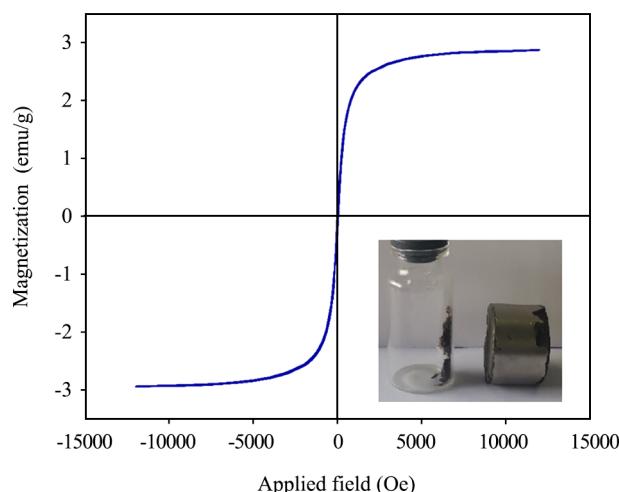
$$\text{Drug release (\%)} = \frac{\text{The amount of released drug}}{\text{The amount of loaded drug}} \times 100 \quad (4)$$

## سیستیک رهایش دارو

مدل‌های مختلف ریاضی و نیمه‌تجربی برای درک سازوکارهای

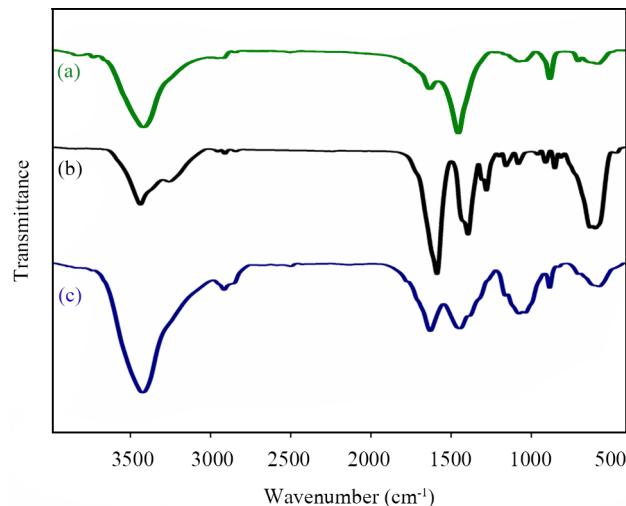
داده شده است. تصویر مربوط به  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (شکل ۴ (a)) بهوضوح نشان می‌دهد، آهن اکسید شکل کروی دارد. شکل ۴ (b) ساختارهای لایه‌ای را با ذرات کروی نشان می‌دهد که می‌توان آن را به توزیع همگن  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  روی لایه‌های ورق‌های GQD نسبت داد. تصاویر SEM دانه‌های هیدروژل CS، MGQD و CS-MGQD در بزرگ‌نمایی کم و زیاد در شکل ۴ (a) تا (f) نشان داده شده است. تصویر SEM دانه‌های هیدروژل CS حاکی از ساختار متخلخل و خشن است. مقایسه تصاویر SEM دانه‌های هیدروژل CS و MGQD نشان داد، افزودن MGQD به ماتریس CS به تغییراتی در شکل شناسی دانه‌های هیدروژل CS و افزایش مناطق چروک‌کیده منجر شده است. این ویژگی‌های فیزیکی باعث تورم خوب دانه‌های هیدروژل می‌شود و CS-MGQD را به عنوان حامل کارآمد برای بارگذاری و رهایش دارو مؤثر می‌سازد. افزون بر این، چنین تغییراتی در شکل شناسی دانه‌های هیدروژل CS می‌تواند برهم‌کنش موفق بین CS و MGQD را تأیید کند. پس از بارگذاری MTX روی CS-MGQD، شکل شناسی تغییر کرد و زبری افزایش یافت که نشان‌دهنده بارگذاری MTX روی سطح CS-MGQD است.

رفتار تورم هیدروژل‌های سنتز شده در دو محیط مختلف برای شبیه‌سازی شرایط فیزیولوژیکی و بافت سرطانی مطالعه شد. به طور خاص، هیدروژل‌ها در  $\text{pH}=7/4$  بافر نمکی فسفاتی (PBS) و دمای  $37^\circ\text{C}$  برای تقلید از محیط فیزیولوژیکی و در  $\text{pH}=5$  بافر سدیم استات (SAB) برای شبیه‌سازی محیط بافت سرطان بررسی شدند که در شکل ۵ نشان داده شده است. بر اساس یافته‌ها، تمام نمونه‌ها تورم وابسته به زمان را نشان دادند. افزون بر این، رفتار تورم به  $\text{pH}$  وابسته



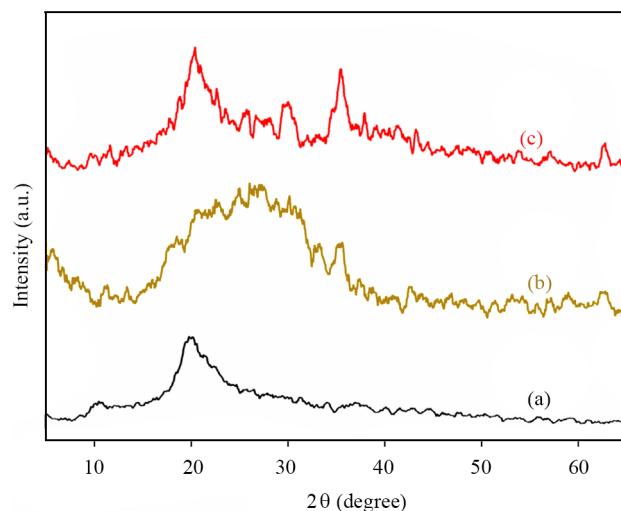
شکل ۳- آزمون تعیین خاصیت مغناطیسی نمونه CS-MGQD

Fig. 3. VSM of CS-MGQD hydrogel beads.



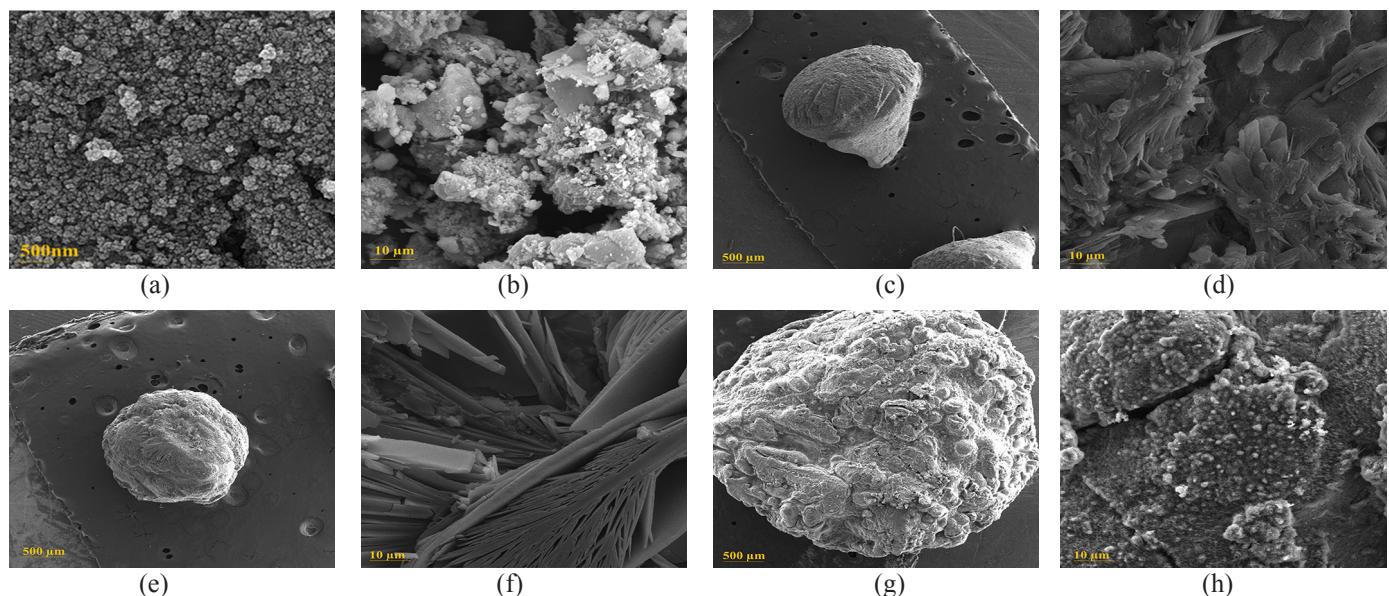
شکل ۱- طیف FTIR نمونه‌های (a) CS-MGQD (b)، CS (a) و MGQD (c).

Fig. 1. FT-IR spectra of (a) CS, (b) MGQD, and (c) CS-MGQD. پراش CS و MGQD شناسایی شدند که تشکیل موقت آمیز دانه‌های هیدروژل زیست‌نافرمانپوزیت CS-MGQD را تأیید می‌کند. خاصیت مغناطیسی CS-MGQD با استفاده از مغناطیس سنج نمونه ارتعاشی (VSM) اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج، خواص مغناطیس نشان داد و مقدار خاصیت مغناطیسی اشباع آن حدود  $2/87 \text{ emu/g}$  بود. (شکل ۳). گفتنی است، دانه‌های هیدروژل CS-MGQD را می‌توان به سرعت با استفاده از آهن ربا جذب کرد [۳۸]. تصاویر SEM نمونه‌های  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ، CS، MGQD، CS-MGQD و MTX/CS-MGQD در بزرگ‌نمایی‌های مختلف در شکل ۴ نشان



شکل ۲- الگوهای XRD نمونه‌های (a) CS، (b) MGQD و (c) CS-MGQD

Fig. 2. XRD patterns of CS (a), (b) MGQD, and (c) CS-MGQD

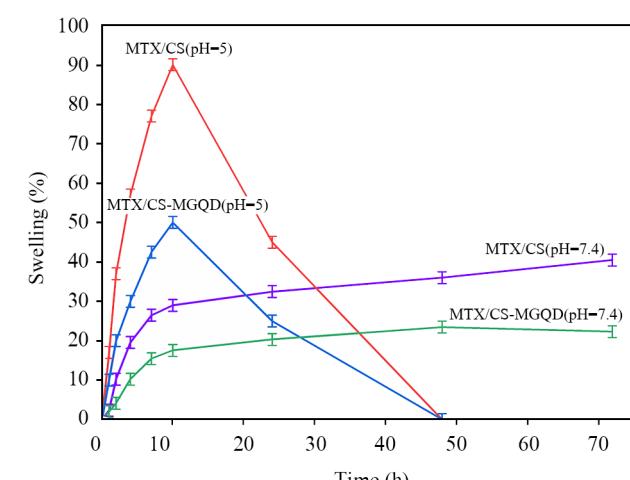


شکل ۴- تصاویر SEM نمونه‌های (a)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (b) MGQD، (c)، (d) pure CS bead، (e)، (f) CS-MGQD bead، and (g)، (h) MTX/CS-MGQD.

Fig. 4. SEM images of (a)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , (b) MGQD, (c), (d) pure CS bead, (e), (f) CS-MGQD bead, and (g), (h) MTX/CS-MGQD.

نانوذرات به پلیمر کیتوسان، بارگذاری دارو را کاهش می‌دهد. بر اساس این مشاهدات، وجود نانوذرات ممکن است، تخلخل پلیمر کیتوسان را کاهش دهد و در نتیجه با افزودن نانوذرات، بارگذاری دارو کاهش می‌یابد. الگوی رهایش دارو در pH ۵/۴ و ۷/۴ در شکل ۷ بررسی شد و این مقادیر pH خاص به ترتیب برای شبیه‌سازی pH معمولی محیط تومور و pH طبیعی خون انتخاب شدند. نتایج نشان می‌دهد، سرعت آزادسازی MTX تحت تأثیر pH، زمان و اثر

بود، نسبت‌های تورم بیشتر در مقدارهای pH اسیدی مشاهده شد. به طور کلی، تورم در pH=۵ بیشتر بود. در این pH، گروههای آمین کیتوسان پروتون دار شدند که به دافعه الکتروستاتیکی بیشتر در شبکه پلیمری و افزایش تمایل به تورم منجر شد. بر عکس، با افزایش pH به ۷/۴ و شبکه‌ای شدن فیزیکی از برهمکنش‌های پیوند هیدروژنی میان گروههای عاملی واحدهای گلوکوز کیتوسان، شبکه پلیمری تمایل به کوچک شدن داشت [۳۹]. با افزودن نانوذرات به پلیمر کیتوسان، تورم کاهش یافت. این موضوع را می‌توان به برهمکنش‌های الکتروستاتیکی و هیدروژنی نسبت داد که به اتصال عرضی بیشتر پلیمر منجر می‌شود. افزون بر این، می‌توان مشاهده کرد، با افزودن نانوذرات و نفوذ آنها به حفره‌های هیدروژل کیتوسان، تورم هیدروژل کاهش می‌یابد. از آنجا که شبکه‌ای شدن هیدروژل‌ها فیزیکی بود، هیدروژل‌ها پس از مدتی در pH=۵ تجزیه شدند [۴۰، ۴۱]. بر اساس نتایج، کاهش وزن دانه‌های هیدروژل در محیط‌های بافر با pH=۵ پس از زمان ۱۰ h آغاز شایان توجهی داشت که می‌تواند به دلیل حمله بخش‌های افزایش شایان توجهی داشت که می‌تواند به ترتیب حدود استاتات محیط بافر (pH=۵) به شبکه هیدروژل و بر این اساس از استحکام و پایداری هیدروژل‌ها با افزودن نانوذرات در محیط (pH=۵) افزایش یافته است (شکل ۶)



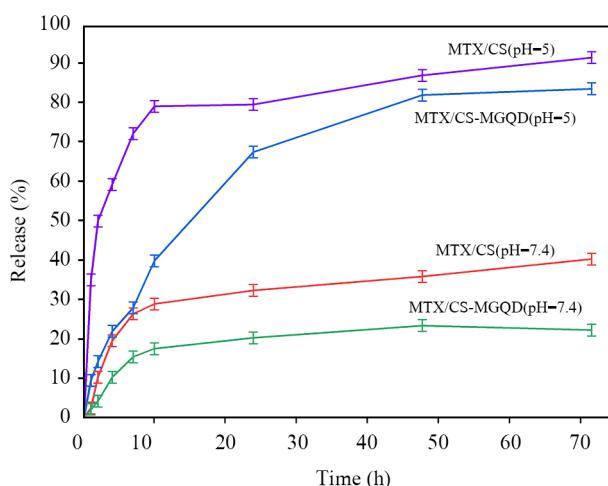
شکل ۵- رفتار تورمی هیدروژل‌های MTX/CS و MTX/CS-MGQD در pH های ۵ و ۷/۴

Fig. 5. Swelling behavior of MTX/CS and MTX/CS-MGQD at pH= 5 and 7.4.

مقدار بارگذاری داروی MTX در نمونه‌ها با طیف‌سنجی UV-Vis محاسبه شد. دانه‌های هیدروژل CS و CS-MGQD به ترتیب حدود ۸۴ و ۶۴٪ MTX را بارگذاری کردند. یافته‌ها نشان داد، افزودن

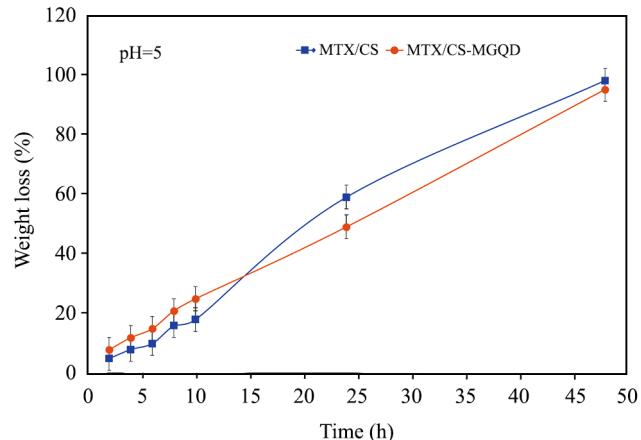
MTX/CS-MGQD با مقدار رهایش کم دارو به عنوان نمونه بهینه انتخاب شد. به طور مشابه، در pH=۵، نانوناکامپوزیت MTX/CS-MGQD مزایایی مانند رهایش کنترل شده، مقدار رهایش انفجاری کم و رهایش کنترل شده تقریباً ۸۰٪ دارو را نشان می‌دهد که آن را به انتخاب بهینه تبدیل می‌کند.

به کمک سیتیک رهایش دارو، نحوه رهایش دارو از MTX/CS-MGQD در شرایط pH مختلف بررسی شد. داده‌های تجربی جمع‌آوری شده بررسی و تحلیل شد که مقادیر ضریب همبستگی ( $R^2$ ) برای این مدل در جدول ۱ مقایسه شده است. هدف یافتن مناسب‌ترین مدلی بود که به طور دقیق فرایند رهایش را توصیف کند. با ارزیابی ضریب همبستگی برای حامل در هر دو محیط pH برابر ۵ و ۷/۴ مدل بهینه تعیین شد که سازوکار رهایش دارو را نشان می‌دهد. نحوه انتشار MTX از حامل‌های MTX/CS-MGQD در محیط اسیدی از مدل آرامش رهایش پیروی می‌کند که در آن  $K_{d1}$  و  $K_{d2}$  به ترتیب ضرایب نفوذ و راحتی هستند. نکته مهم این است که مقدار کمتر  $K_{d2}$  در مقایسه با  $K_{d1}$  برای این نانوناکامپوزیت‌ها نشان می‌دهد که سازوکار آزادسازی دارو به طور عمده در اثر رهایش Fickian کنترل می‌شود [۴۵]. افزون بر این، در ماتریس‌های کروی، مقدار n کمتر از ۰/۴۳ نشان می‌دهد که سازوکار آزادسازی دارو از نانوناکامپوزیت از رهایش Fickian پیروی می‌کند. اگر مقدار n بین ۰/۴۳ و ۰/۸۵ باشد، نشان‌دهنده انتقال مورد II است. در این مطالعه خاص، از آنجا که مقدار n در مدل Korsmeyer-Peppas برای همه نمونه‌ها کمتر از ۰/۴۳ بود، می‌توان نتیجه گرفت، سازوکار غالب در رهایش داروی



شکل ۷- رفتار رهایش دارو از هیدروژل‌های MTX/CS و MTX/CS-MGQD

Fig. 7. Drug release behavior of MTX/CS and MTX/CS-MGQD.



شکل ۶- تخریب هیدروژل‌های MTX/CS و MTX/CS-MGQD در pH=۵

Fig. 6. Degradation behavior of MTX/CS and MTX/CS-MGQD at pH 5.

افزودن نانوذرات است. سرعت رهایش MTX از MTX/CS در محیط‌های فیزیولوژیکی (pH=۷/۴) در مقایسه با شرایط اسیدی (pH=۵) کندر بود. علت رهایش زیاد دارو از نانوناکامپوزیت MTX/CS نسبت به نانوناکامپوزیت MTX/CS-MGQD را می‌توان به مقدار بارگذاری زیاد دارو در نانوناکامپوزیت MTX/CS مرتبط کرد. با توجه به حل‌پذیری، CS در محلول‌های آبی اسیدی، سریع‌ترین سرعت رهایش دارو را نشان می‌دهد. افزون بر این، گروه آمینه موجود در CS (با مقدار pKa تقریباً ۶/۵ در شرایط اسیدی تحت آب کافت قرار می‌گیرد که به تولید ترکیبات یونی مثبت منجر می‌شود (بهویژه با توجه به pH اسیدی و بار منفی بافت‌های سرطانی مرتبط است) [۴۳]. افزون بر این، بررسی رهایش دارو از کیتوسان در هر دو محیط اسیدی و قلیایی، رهایش انفجاری اولیه و رفتار رهایش کنترل نشده دارو از این حامل را نشان داد. همچنین طبق مطالعات پیشین رهایش دارو از سامانه‌های کیتوسان-گرافن دارای رهایش انفجاری اولیه زیاد دارو بود [۱۰]. برای رفع چنین مشکلی، این مطالعه با هدف بررسی افزودن نانوذرات در پلیمر کیتوسان انجام شد. ارزیابی رهایش دارو در pH=۵ نشان داد، با افزودن نانوذرات رهایش کنترل شده دارو مشاهده شد. این پدیده را می‌توان به افزایش پروتون‌دارشدن گروه‌های آمینه در زنجیره‌های پلیمری کیتوسان نسبت داد که به افزایش وجود بارهای مثبت منجر می‌شود [۴۴]. در شرایط pH=۷/۴ نانوناکامپوزیت‌ها نمودارهای رهایش داروی متفاوتی را نشان دادند. برای به حداقل رساندن عوارض جانبی مرتبط با دارو و محدود کردن رهایش در محیط فیزیولوژیکی بدن (pH=۷/۴)، نانوناکامپوزیت

## جدول ۱- نتایج سیستیک رهایش دارو.

Table 1. The results of drug release kinetics.

Kinetics model	Equation	MTX/CS-MGQD	
		pH=5	pH=7.4
Zero-order	$Q_t = Q_0 + K_0 t$	$K_0 = 1.5$ $R^2 = 0.8376$	$K_0 = 0.431$ $R^2 = 0.581$
First order	$\ln Q_t = \ln Q_0 + K_1 t$	$K_1 = 0.075$ $R^2 = 0.678$	$K_1 = 0.062$ $R^2 = 0.391$
Diffusion relaxation	$\frac{Q_t}{Q_\infty} = k_{dl} t^n + k_{d2} t^{2n}$	$K_{dl} = 0.093$ $K_{d2} = -2.13 \times 10^{-3}$ $n = 0.78$ $R^2 = 0.9956$	$K_{dl} = 0.193$ $K_{d2} = -8.6 \times 10^{-3}$ $n = 0.674$ $R^2 = 0.9477$
Korsmeyer-Peppas	$\frac{Q_t}{Q_\infty} = k_{kp} t^n$	$k_{kp} = 0.134$ $n = 0.418$ $R^2 = 0.9784$	$k_{kp} = 0.261$ $n = 0.383$ $R^2 = 0.8693$
Weibull	$\frac{Q_t}{Q_\infty} = 1 - \exp(-k_b t^n)$	$K_b = 0.075$ $n = 0.956$ $R^2 = 0.991$	$K_b = 0.111$ $n = 1.175$ $R^2 = 0.9845$

برای تحویل داروی متوترکسات استفاده شدند. با آزمون‌های مختلف مانند FTIR، XRD و SEM درستی ستنتز تأیید شد. بر اساس بررسی VSM، مشخص شد، دانه‌های هیدروژل نانوکامپوزیت CS-MGQD می‌توانند به میدان مغناطیسی بیرونی پاسخ دهند و به سمت مکان هدف حرکت کنند. دانه‌های هیدروژل زیست‌نانوکامپوزیت ساخته شده با MTX بارگذاری شدند و عملکرد دارورسانی آن با کپسول‌دارکردن دارو و مطالعات رهایش دارو در شرایط آزمایشگاهی ارزیابی شد. دانه‌های هیدروژل CS و CS-MGQD pH حساسیت pH زیادی را در رهایش داروی MTX در pH=۵ در مقایسه با pH=۷/۴ نشان دادند. با بررسی رهایش دارو از نانوکامپوزیت‌ها، مشاهده شد، نانوکامپوزیت MTX/CS-MGQD رهایش کم در محیط فیزیولوژیکی بدن (pH=۷/۴) نشان می‌دهد، در حالی که بیشترین رهش و رهش کنترل شده دارو در محیط اسیدی (pH=۵) انجام می‌شود. در نتیجه، نانوکامپوزیت MTX/CS-MGQD به عنوان نانوکامپوزیت بهینه انتخاب شد.

MTX، رهایش Fickian است [۴۶، ۴۷]. افزون بر این، سازوکار رهایش دارو از این نانوکامپوزیت در محیط بازی از مدل Weibull پیروی می‌کند. پارامتر  $K_b$  در معادله Weibull رهایش انفجراری اولیه دارو را نشان می‌دهد. به طور شایان توجهی، نانوکامپوزیت MTX/CS-MGQD درصد مقدار کمتری را در هر دو شرایط اسیدی و قلیایی نشان داد که نشان‌دهنده کم‌بودن رهایش انفجراری اولیه دارو است. بر اساس این یافته‌ها، می‌توان استنباط کرد، نانوکامپوزیت MTX/CS-MGQD بهترین انتخاب را برای دستیابی به رهایش کنترل شده دارو ارائه می‌دهد [۴۸].

## نتیجه‌گیری

در این مطالعه ترکیبی از دانه‌های هیدروژل کیتوسان همراه با نانوذرات نقاط کوانتمی گرافن (CS-MGQD) تهیه و به عنوان حامل

## علامه اختصاری

FTIR	Fourier-transform infrared
CS	Chitosan
GQDs	Graphene quantum dots
MGQD	Magnetic graphene quantum dot
MTX	Methotrexate

PBS	Phosphate-buffered saline
SAB	Sodium acetate buffer
SEM	Scanning electron microscopy
VSM	Vibrating-sample magnetometer

## مراجع

1. Hirsch F., Scagliotti G., Mulshine J., Kwon R., Curran W.J.Jr., Wu Y.L., Paz-Ares L., Lung Cancer: Current Therapies and New Targeted Treatments, *Lancet*, **389**, 299-311, 2017.
2. Merlos M., Portillo-Salido E., Brenchat A., Aubel B., Buxens J., Fisas A., Codony X., Romero L., Zamanillo D., and Vela J.M., Administration of a co-Crystal of Tramadol and Celecoxib in a 1:1 Molecular Ratio Produces Synergistic Antinociceptive Effects in a Postoperative Pain Model in Rats, *Eur. J. Pharmacol.*, **833**, 370-378, 2018.
3. Ghorpade V.S., Yadav A.V., and Dias R.J., Citric Acid Crosslinked  $\beta$ -Cyclodextrin/Carboxymethylcellulose Hydrogel Films for Controlled Delivery of Poorly Soluble Drugs, *Carbohydr. Polym.*, **164**, 339-348, 2017.
4. Yang J., Chen J., Pan D., Wan Y., and Wang Z., pH-Sensitive Interpenetrating Network Hydrogels Based on Chitosan Derivatives and Alginate for Oral Drug Delivery, *Carbohydr. Polym.*, **92**, 719-725, 2013.
5. Gerweck L.E. and Seetharaman K., Cellular pH Gradient in Tumor Versus Normal Tissue: Potential Exploitation for the Treatment of Cancer, *Cancer Res.*, **56**, 1194-1198, 1996.
6. Hasnain M.S. and Nayak A.K., Chitosan as Responsive Polymer for Drug Delivery Applications, *Stimuli Responsive Polymeric Nanocarriers for Drug Delivery Applications*, **1**, Elsevier, 581-605, 2018.
7. Nisar S., Pandit A.H., Nadeem M., Pandit A.H., Rizvi M.M.A., and Rattan S.,  $\gamma$ -Radiation Induced L-Glutamic Acid Grafted Highly Porous, pH-Responsive Chitosan Hydrogel Beads: A Smart and Biocompatible Vehicle for Controlled Anti-Cancer Drug Delivery, *Int. J. Biol. Macromol.*, **182**, 37-50, 2021.
8. Tao F., Ma S., Tao H., Jin, L. Luo Y., Zheng J., Xiang W., and Den H. g., Chitosan-based Drug Delivery Systems: From Synthesis Strategy to Osteomyelitis Treatment—A Review, *Carbohydr. Polym.*, **251**, 117063, 2021.
9. Kafshgari M.H., Delalat B., Tong W.Y., Harding F.J., Kaasalainen M., Salonen J., and Voelcker N.H., Oligonucleotide Delivery by Chitosan-Functionalized Porous Silicon Nanoparticles, *Nano Res.*, **8**, 2033-2046, 2015.
10. Sheng Y., Dai W., Gao J., Li H., Tan W., Wang J., Deng L., and Kong Y., pH-Sensitive Drug Delivery Based on Chitosan Wrapped Graphene Quantum Dots with Enhanced Fluorescent Stability, *Mater. Sci. Eng. C*, **112**, 110888, 2020.
11. Wang C., Zhang Z., Chen B., Gu L., Li Y., Yu S., Design and Evaluation of Galactosylated Chitosan/Graphene Oxide Nanoparticles as a Drug Delivery System, *J. Colloid Interface Sci.*, **516**, 332-341, 2018.
12. Soares P.I., Machado D., Laia C. Pereira L.C., Coutinho J.T., Ferreira I.M., Novo C.M., and Borges J.P., Thermal and Magnetic Properties of Chitosan-Iron Oxide Nanoparticles, *Carbohydr. Polym.*, **149**, 382-390, 2016.
13. Bharath G., Prabhu D., Mangalaraj D., Viswanathan C., and Ponpandian N., Facile in Situ Growth of Fe-O- Nanoparticles on Hydroxyapatite Nanorods for pH Dependent Adsorption and Controlled Release of Proteins, *RSC Adv.*, 2014.
14. Shan Z., Li X., Gao Y., Wang X., Li C., and Wu Q., Application of Magnetic Hydroxyapatite Nanoparticles for Solid Phase Extraction of Plasmid DNA, *Anal. Biochem.*, **425**, 125-127, 2012.
15. Gu L., He X., and Wu Z., Mesoporous  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ /Hydroxyapatite Composite for Targeted Drug Delivery, *Mater. Res. Bull.*, **59**, 65-68, 2014.
16. Hou C.-H., Hou S.-M., Hsueh Y.-S., Lin J., Wu H.-C., and Lin F.-H., The In Vivo Performance of Biomagnetic Hydroxyapatite Nanoparticles in Cancer Hyperthermia Therapy, *Biomaterials*, **30**, 3956-3960, 2009.
17. Shen L., Li B., and Qiao Y.,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  Nanoparticles in Targeted Drug/Gene Delivery Systems, *Materials (Basel)*, **11**, 324, 2018.
18. Bilal M., Mehmood S., Rasheed T., and Iqbal H.M., Bio-catalysis and Biomedical Perspectives of Magnetic Nanoparticles as Versatile Carriers, *Magnetochemistry*, **5**, 42, 2019.
19. Lv O., Tao Y., Qin Y., Chen C., Pan Y., Deng L., Liu L., and Kong Y., Highly Fluorescent and Morphology-Controllable Graphene Quantum Dots-Chitosan Hybrid Xerogels for in Vivo Imaging and pH-Sensitive Drug Carrier, *Mater. Sci. Eng. C*, **67**, 478-485, 2016.
20. Bacon M., Bradley S.J., and Nann T., Graphene Quantum Dots, *Part. Part. Syst. Charact.*, **31**, 415-428, 2014.
21. Kumara B., Shambhu R., Prabhu A., and Prasad K.S., Novel Chitosan-Graphene Quantum Dots Composite for Therapeutic Delivery and Tracking Through Enzymatic Stimuli Response, *Carbohydr. Polym.*, **289**, 119426, 2022.

22. Chen L., Hong W., Duan S., Li Y., Wang J., and Zhu J., Graphene Quantum Dots mediated Magnetic Chitosan Drug Delivery Nanosystems for Targeting Synergistic Photothermal-Chemotherapy of Hepatocellular Carcinoma, *Cancer Biol. Ther.*, **23**, 281-293, 2022.
23. Abolmaali S.S., Tamaddon A.M., Dinarvand R., A Review of Therapeutic Challenges and Achievements of Methotrexate Delivery Systems for Treatment of Cancer and Rheumatoid Arthritis, *Cancer Chemother Pharmacol.*, **71**, 1115-1130, 2013.
24. Purcell W.T. and Ettinger D.S., Novel antifolate drugs, *Curr. Oncol. Rep.*, **5**, 114-125, 2003.
25. Khan Z.A., Tripathi R., Mishra B., Methotrexate: A Detailed Review on Drug Delivery and Clinical Aspects, *Expert Opinion on Drug Delivery*, **9**, 151-169, 2012.
26. Choi G., Kwon O.-J., Oh Y., Yun C.-O., and Choy J.-H., Inorganic Nanovehicle Targets Tumor in an Orthotopic Breast Cancer Model, *Sci. Rep.*, **4**, 1-7, 2014.
27. Javanbakht S., Nazari N., Rakhshaei R., and Namazi H., Cu-Crosslinked Carboxymethylcellulose/Naproxen/Graphene Quantum Dot Nanocomposite Hydrogel Beads for Naproxen Oral Delivery, *Carbohydr. Polym.*, **195**, 453-459, 2018.
28. Mo Z., Zhang C., Guo R., Meng S., and Zhang J., Synthesis of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  Nanoparticles Using Controlled Ammonia Vapor Diffusion under Ultrasonic Irradiation, *Ind. Eng. Chem. Res.* **50**, 3534-3539, 2011.
29. Javanbakht S., Namazi H., Doxorubicin Loaded Carboxymethyl Cellulose/Graphene Quantum Dot Nanocomposite Hydrogel Films as a Potential Anticancer Drug Delivery System, *Mater. Sci. Eng. C*, **87**, 50-59, 2018.
30. Naghshbandi Z., Arsalani N., Zakerhamidi M.S., and Geckeler K.E., A Novel Synthesis of Magnetic and Photoluminescent Graphene Quantum Dots/M $\text{Fe}_2\text{O}_4$  (M=Ni, Co) Nanocomposites for Catalytic Application, *Appl. Surf. Sci.*, **443**, 484-491, 2018.
31. Barzegarzadeh M., Amini-Fazl M.S., and Sohrabi N., Ultrasound-Assisted Adsorption of Chlорpyrifos from Aqueous Solutions Using Magnetic Chitosan/Graphene Quantum Dot-Iron Oxide Nanocomposite Hydrogel Beads in Batch Adsorption Column and Fixed Bed, *Int. J. Biol. Macromol.*, **242**, 124587, 2023.
32. Amini-Fazl M.S., Mohammadi R., and Kheiri K., 5-Fluorouracil Loaded Chitosan/Polyacrylic Acid/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$  Magnetic Nanocomposite Hydrogel as a Potential Anticancer Drug Delivery System, *Int. J. Biol. Macromol.*, **132**, 506-513, 2019.
33. Lustriane C., Dwivany F.M., Suendo V., and Reza M., Effect of Chitosan and Chitosan-Nanoparticles on Post Harvest Quality of Banana Fruits, *Plant Biotechnol. J.*, **45**, 36-44, 2018.
34. Queiroz M.F., Teodosio Melo K.R., Sabry D.A., Sasaki G.L., and Rocha H.A.O., Does the Use of Chitosan Contribute to Oxalate Kidney Stone Formation?, *Marine drugs*, **13**, 141-158, 2014.
35. Sahebalzamani H., Mehrani K., Hosseini H.R.M., and Zare K., Effect of Synthesis Temperature of Magnetic–Fluorescent Nanoparticles on Properties and Cellular Imaging, *J. Inorg. Organomet. Polym.*, **30**, 4597-4605, 2020.
36. Badawy M.E., Lotfy T.M., and Shawir S., Preparation and Antibacterial Activity of Chitosan-Silver Nanoparticles for Application in Preservation of Minced Meat, *Boll. Natt. Res. Cent.*, **43**, 1-14, 2019.
37. Barzegarzadeh M., Amini-Fazl M.S., and Nasrizadeh H., A Rapid and Sensitive Method to Detection of  $\text{Cr}^{3+}$  by Using the  $\text{Fe}_3\text{O}_4@$  Pectin-Polymethacrylimide@Graphene Quantum dot as a Sensitive Material, *Chem. Pap.*, 1-10, 2022.
38. Enache A.-C., Grecu I., Samoilă P., Cojocaru C., and Harabagiu V., Magnetic Ionotropic Hydrogels Based on Carboxymethyl Cellulose for Aqueous Pollution Mitigation, *Gels*, **9**, 358, 2023.
39. Berger J., Reist M., Mayer J., Felt O., Peppas N., and Gurny R., Structure and Interactions in Covalently and Ionically Crosslinked Chitosan Hydrogels for Biomedical Applications, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **57**, 19-34, 2004.
40. Zhang D., Yang S., Chen Y., Liu S., Zhao H., and Gu J., 60Co  $\gamma$ -Ray Irradiation Crosslinking of Chitosan/Graphene Oxide Composite Film: Swelling, Thermal Stability, Mechanical, and Antibacterial Properties, *Polymers*, **10**, 294, 2018.
41. Tanan W., Panichpakdee J., and Saengsuwan S., Novel Biodegradable Hydrogel Based on Natural Polymers: Synthesis, Characterization, Swelling/Reswelling and Biodegradability, *Eur. Polym. J.*, **112**, 678-687, 2019.
42. Bajpai S. and Kirar N., Swelling and Drug Release Behavior of Calcium Alginate/Poly (Sodium Acrylate) Hydrogel Beads, *Des Monomers Polym.*, **19**, 89-98, 2016.
43. Shikhi-Abadi P.G. and Irani M., A Review on the Applications of Electrospun Chitosan Nanofibers for the Cancer Treatment, *Int. J. Biol. Macromol.*, **183**, 790-810, 2021.
44. Zavareh H.S., Pourmadi M., Moradi A., Yazdian F., and Omidi M., Chitosan/Carbon Quantum Dot/Aptamer Complex

- as a Potential Anticancer Drug Delivery System Towards the Release of 5-Fluorouracil, *Int. J. Biol. Macromol.*, **165**, 1422-1430, 2020.
45. Peppas N.A. and Sahlin J.J., A Simple Equation for the Description of Solute Release. III. Coupling of Diffusion and Relaxation, *Int. J. Pharm.*, **57**, 169-172, 1989.
46. Ritger P.L. and Peppas N.A., A Simple Equation for Description of Solute Release I. Fickian and Non-fickian Release from Non-swellable Devices in the form of Slabs, Spheres, Cylinders or Discs, *J. Control. Release*, **5**, 23-36, 1987.
47. Luo C., Yang Q., Lin X., Qi C., and Li G., Preparation and Drug Release Property of Tanshinone IIA Loaded Chitosan-Montmorillonite Microspheres, *Int. J. Biol. Macromol.*, **125**, 721-729, 2019.
48. Weibull W., A Statistical Distribution Function of Wide Applicability, *J. Appl. Mech.*, 1951.