

Synthesis of Magnetic Graphene Quantum Dot/ Chitosan Bionanocomposite Hydrogel Beads for Drug Delivery System

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 system

(*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.S., Synthesis of Magnetic Graphene Quantum Dot/Chitosan Bionanocomposite Hydrogel Beads for Drug Delivery System, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **36**, 409-420, 2023.

سنتز دانه‌های هیدروژل زیست‌نانوکامپوزیت نقطه کوانتومی گرافن مغناطیسی-کیتوسان برای سامانه دارورسانی

حسین پورصادق، مهدی برزگرزاده، محمدصادق امینی فضل*

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

کد پستی ۵۱۶۶۶۱۶۴۷۱

دریافت: ۱۴۰۲/۶/۵، پذیرش: ۱۴۰۲/۹/۱۳

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 به‌عنوان حامل در سامانه‌های دارورسانی جلب کرده‌اند.

روش‌ها: در این پژوهش، ابتدا نقطه کوانتومی 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 کوانتومی گرافن و قابلیت تنظیم رهایش دارو توانست نقطه عطف مهمی در زمینه پژوهش‌های دارورسانی و سازگاری داروها با محیط زیست ایجاد کند. سنتز و تشکیل ترکیب مدنظر به کمک آزمون‌های مختلف از جمله FTIR برای شناسایی گروه‌های عاملی، XRD برای شناسایی ساختار بلوری و SEM برای بررسی شکل‌شناسی نمونه، تأیید شد.

یافته‌ها: حدود ۸۴ و ۶۴٪ از MTX به ترتیب در دانه‌های هیدروژل CS و CS-MGQD بارگذاری شد. بر اساس نتایج رفتار تورم و رفتار رهایش دارو، دانه‌های هیدروژل تورم وابسته به pH و رهایش MTX را 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 کوانتومی گرافن مغناطیسی،

سامانه دارورسانی

* مسئول مکاتبات، پیام‌نگار:

ms.amini@tabrizu.ac.ir

مقدمه

سرطان بیماری پیچیده و با انواع متنوع است که می‌تواند کشنده و ناتوان‌کننده باشد. رویکردهای اولیه استفاده‌شده برای درمان سرطان معمولاً شامل ترکیبی از روش‌های مختلف مانند جراحی، پرتودرمانی، شیمی‌درمانی، ایمنی‌درمانی، درمان هدفمند و هورمون‌درمانی است [۱،۲]. 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 به‌منظور بهبود نتایج درمان تمرکز کرده‌اند. سامانه‌های دارورسانی نقش مهمی در بهبود اثربخشی داروها، کاهش عوارض جانبی ناخواسته و اطمینان از تحویل ایمن داروها دارند [۳،۴]. مقادیر pH در شرایط مختلف بیماری مانند عفونت‌ها، کم‌خونی موضعی (ischemia)، التهاب‌ها و سرطان‌ها و نیز در بافت‌ها یا اندام‌های مختلف به‌طور شایان توجهی متفاوت است. در سال‌های اخیر، از چندین سامانه پلیمری هوشمند پاسخگو به pH، به‌طور گسترده به‌عنوان حامل در سامانه‌های دارورسانی استفاده شده است [۵-۷]. کیتوسان (CS) یکی از فراوان‌ترین زیست‌پلیمر طبیعی است که به‌دلیل خواص مفیدی مانند تقویت‌کننده ایمنی، سمی‌نبودن، حساس‌بودن به pH، زیست‌تخریب‌پذیری، ضدقارچ، ضدزخم و ضداسیدبودن و داشتن فعالیت‌های ضدتوموری و نیز به‌عنوان حامل مناسب در سامانه‌های دارورسانی به‌طور گسترده استفاده می‌شود. کیتوسان به‌شکل 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 به‌عنوان حامل در سامانه‌های دارورسانی محدود می‌کند [۸]. برای غلبه بر این مشکلات، استفاده از نانوذرات شامل سیلیکون یا مواد کربنی [۴،۹]، نقطه کوانتومی گرافن [۱۰]، گرافن اکسید [۱۱] و اکسید آهن می‌تواند پایداری دانه‌های کیتوسان را افزایش دهد و نحوه رهایش داروها را پیوسته‌تر و کندتر کند [۱۲].

در سال‌های اخیر، پژوهش‌های گسترده‌ای درباره استفاده از نانوذرات آهن اکسید (Fe_3O_4) به‌عنوان حامل در سامانه‌های دارورسانی انجام شده است. این علاقه از خواص شیمیایی و فیزیکی متمایز آن‌ها، از جمله تخریب‌پذیری، امکان هدفمندسازی نانوکامپوزیت، بازیافت‌پذیری عالی، مغناطیسی‌بودن، نداشتن سمیت یاخته‌ای، زیست‌سازگاری، پایداری شیمیایی زیاد، مقرون‌به‌صرفه‌بودن در تولید، سطح واکنش‌پذیری، سنتز آسان و عملکرد همه‌کاره ناشی می‌شود. مطالعات اخیر نشان می‌دهد، ادغام خواص مغناطیسی و

نانوساختاری دو برتری شایان توجه را ارائه می‌دهد. اول اینکه، زیست‌سازگاری را تضمین می‌کند و آن را برای استفاده در زمینه‌های زیست‌پزشکی سازگار می‌کند. دوم اینکه، تحویل دقیق دارو به مکان‌های تعیین‌شده را به‌کمک میدان مغناطیسی خارجی امکان‌پذیر می‌سازد [۱۳-۱۶]. افزون بر این، نانوذرات آهن اکسید به‌دلیل سطح زیاد و برهم‌کنش دوقطبی-دوقطبی در محلول آبی تجمع می‌یابند که ظرفیت تحویل دارو را کاهش می‌دهد [۱۷،۱۸]. برای غلبه بر این مشکل، از نانوذرات نقطه کوانتومی گرافن به‌عنوان لایه محافظ و تثبیت‌کننده برای جلوگیری از تماس مستقیم میان نانوذرات آهن اکسید استفاده می‌شود. نقاط کوانتومی گرافن (GQDs) با خواص منحصربه‌فردی مانند پایداری شیمیایی، سازگاری 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 کوانتومی مغناطیسی گرافن (MGQD) در دانه‌های کیتوسان می‌تواند به‌حالت پیوسته‌تر و آهسته رهش داروها منجر شود. اخیراً مطالعاتی انجام شده است که ترکیب نقاط کوانتومی گرافن با کیتوسان را انتخاب مناسبی برای رهش کنترل‌شده دارو معرفی کرده‌اند [۲۱،۲۲]. داروی متوترکسات (MTX) معمولاً به‌عنوان 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 نیز برای درمان روماتیسم مفصلی (rheumatoid arthritis) تجویز می‌شود [۲۳،۲۴]. در حالی که کاربرد بالینی MTX در درمان سرطان به‌طور گسترده مستند شده است، تجویز خوراکی آن اغلب به‌دلیل چالش در سینتیک دارویی (pharmacokinetics)، عوارض جانبی شایان توجه، حساسیت به مقاومت دارویی بیمار و نیاز به دُزهای زیاد محدود می‌شود [۲۵،۲۶]. برای حل مشکل بیان‌شده با تحویل خوراکی MTX، راه‌حل جدیدی ارائه شده است که در آن دارو درون دانه‌های هیدروژل زیست‌سازگار متشکل از پلیمرها کپسول‌دار 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 به‌عنوان حامل دارویی حساس به pH بود. هیدروژل زیست‌نانوکامپوزیتی با استفاده از محلول NaOH به‌هم متصل شد و سپس دانه‌های هیدروژل کیتوسان دارای MTX بارگذاری شد. عملکرد تحویل دارو با آزمایش‌های متمرکز بر کپسول‌دارکردن و رهایش دارو در شرایط آزمایشگاهی ارزیابی شد. افزون بر این، در مطالعه حاضر اثر MGQD بر رفتار تورم و رهایش دارو بررسی شد.

تجربی

مواد

سنتر نانوذرات نقاط کوانتومی گرافن مغناطیسی (MGQD) ۲ g آهن اکسید در ۱۰۰ mL محلول دارای GQD (۰/۰۲ g/mL) با فراصوت دهی پراکنده شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۲ h در دمای محیط هم‌زده شد. رسوب با استفاده از آهن ربای خارجی از محلول جدا شد و بارها با آب مقطر به‌طور مداوم شست‌وشو داده شد. در نهایت، محصول درون آن به مدت ۲۴ h با دمای ۵۰°C خشک شد [۳۰].

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 (NaOH)، آمونیاک (NH_3)، استیک اسید، سیتریک اسید، اتانول، سدیم استات و مونوپتاسیم فسفات (KH_2PO_4) بود که همگی با خلوص مناسب تهیه شدند. متوترکسات (MTX) از شرکت Cipla India تهیه شد. تمام حلال‌ها و سایر مواد استفاده‌شده محصول شرکت Merck بودند.

دستگاه‌ها

تهیه دانه‌های هیدروژل زیست‌نانوکامپوزیت CS و MGQD (CS-MGQD) نانوکامپوزیت‌های بر پایه دانه‌های هیدروژل (CS و CS-MGQD) طبق روش‌های گزارش‌شده پیشین سنتز شدند [۳۱]. به‌طور خلاصه، ۱ g از CS و ۰/۰۱۵ g از MGQD به ۴۰ mL استیک اسید آبی ۲/۵٪ (v/v) اضافه و مخلوط شد. هم‌زدن تا زمانی ادامه یافت که محلول یکنواخت شفاف به‌دست آید. سپس، محلول‌ها به‌شکل قطره به محلول آبی (۱۰۰ mL) دارای (۱۰ g) NaOH در دمای ۲۵°C اضافه شد تا دانه‌های هیدروژل CS-MGQD و CS تشکیل شود. سپس، دانه‌ها با آهن ربای خارجی جدا شده و با آب مقطر شسته و در دمای ۵۰°C خشک شدند.

در این پژوهش، طیف‌سنج زیرقرمز تبدیل فوریه (FTIR) Bruker مدل Tensor27 ساخت آلمان، دستگاه UV-Vis Analytik Jena (Specord250) ساخت آلمان، پراش‌سنج پرتو X مدل Tongda (TD-3700) ساخت چین با محدوده پویش ۷۰-۱۰ در دمای معمولی و میکروسکوپ الکترونی پویشی TESCA ساخت جمهوری چک به‌کار گرفته شد. طیف FTIR با تهیه قرص‌های KBr در محدوده $4000-3700 \text{ cm}^{-1}$ ثبت شد. تصاویر SEM نیز در ۳۰ kV گرفته شد. بررسی تجربی مغناطیسی با مغناطیس‌سنج نمونه ارتعاشی VSM، ساخت مگنت کویر ادیبل، در میدان مغناطیسی ۱۲۵۰۰ Oe تا ۱۲۵۰۰ Oe در دمای معمولی انجام شد.

روش‌ها

سنتر نانوذرات آهن

مطالعه تورم خواص تورمی دانه‌ها با روش غوطه‌وری بررسی شد. دانه‌های هیدروژل از نظر تورم در دو محلول بافر با pH متفاوت، ۷/۴ و ۵ آزمایش شدند. برای انجام آزمایش، ۱۰ mg از هیدروژل‌ها وزن شده و در ۲ mL از محلول‌های بافر در دمای معمولی غوطه‌ور شدند. سپس، دانه‌های متورم در فواصل زمانی مشخص از محلول بافر جدا شدند و آب جذب‌شده روی سطح دانه‌ها با کاغذ صافی خارج شد و بلافاصله نمونه‌ها وزن شدند. درصد تورم نمونه‌ها از معادله (۱) محاسبه شد:

برای سنتز نانوذرات Fe_3O_4 ، ابتدا محلول دارای ۲ g از $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ و ۱ g از $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ تهیه و به مدت ۲۰ min در آب هم‌زده شد. در مرحله بعد، مخلوط در دمای ۸۰°C در جو نیتروژن گرم شد و ۵ mL از NH_3 به‌تدریج اضافه شد تا محیط واکنش مدنظر ایجاد شود. پس از ۳۰ min، نانوذرات آهن تشکیل‌شده با استفاده از میدان مغناطیسی خارجی جدا شده و با آب مقطر شسته شدند [۲۸].

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

w_s و w_d به‌ترتیب وزن نمونه‌ها پس از تورم در زمان مشخص و وزن نمونه‌های خشک‌شده اولیه است.

سنتر نانوذرات نقاط کوانتومی

بررسی مقدار کاهش وزن مقدار کاهش وزن‌ها طبق کارهای پیشین بررسی شد [۲۹، ۳۲]. برای تعیین مقدار کاهش وزن هیدروژل‌ها (۱۰ mg)، نمونه‌ها در زمان‌های مشخص در محلول بافر با pH=۵ قرار داده شدند. سپس، محلول بافر جدا شد و آب جذب‌شده روی سطح دانه‌ها با کاغذ صافی خارج شد. هیدروژل دانه‌ها به مدت ۲۴ h در دمای ۴۵°C خشک شد. مقدار

نقاط کوانتومی گرافن (GQD) به روش تجزیه گرمایی سنتز شد. به‌طور خلاصه، ۲ g سیتریک اسید در دمای ۲۰۰°C به مدت ۲۰ min گرما داده شد تا محلول نارنجی‌رنگ حاصل شود. سپس، مایع نارنجی‌رنگ حاصل به‌تدریج به ۲۰۰ mL محلول سدیم هیدروکسید ۰/۲۵ مولار اضافه شد. در نهایت، رسوب با استفاده از تبخیرکن چرخان (rotary evaporator) از محلول جدا و با خشک‌کن انجمادی خشک شد [۲۹].

رهایش MTX با نرم‌افزار Mathcad مدل‌سازی شد. از پنج مدل سینتیکی سستی برای ارزیابی سازوکارهای آزادسازی MTX استفاده شد که معادله‌های این مدل‌ها در جدول ۱ است. در این معادلات، مقدار تجمعی آزاد شده در زمان t ، Q_t مقدار اولیه MTX آزاد شده، K_0 ثابت مرتبه صفر، K_1 ثابت مرتبه اول، k_{d1} و k_{d2} نشان‌دهنده ثابت آسایش رهایش و n توان رهایش است. در مدل Weibull، n منحنی رهاسازی دارو را نشان می‌دهد و سازوکار آن را تعیین می‌کند، در حالی که k_p متناسب با مقدار رهایش انفجاری اولیه بوده و مقدار k_p بیشتر مربوط به رهایش انفجاری اولیه بزرگ‌تر است.

نتایج و بحث

در شکل ۱ نتایج FTIR مربوط به CS، MGQD و CS-MGQD نشان داده شده است. در طیف CS، پیک پهن در 3434 cm^{-1} به ارتعاش کششی گروه‌های OH- و NH₂- نسبت داده شد. پیک‌های 1590 و 1626 cm^{-1} را می‌توان به ترتیب به ارتعاش خمشی گروه NH₂- و کششی گروه امید C=O اختصاص داد (از آنجا که کیتوسان از کیتین تولید می‌شود، گروه امید به کیتین مربوط بوده که به‌عنوان ناخالصی در کیتوسان موجود است) [۳۳، ۳۴]. در طیف MGQD، ارتعاش کششی C-H متقارن در محدوده 1390 cm^{-1} و ارتعاش کششی C-H در 2950 cm^{-1} شناسایی شد. در واقع، ارتعاش اسکلتی حلقه‌های آروماتیک در حدود 1390 cm^{-1} تا 1600 cm^{-1} و ارتعاش کششی C-H حلقه‌های آروماتیک حدود 2850 cm^{-1} تا 3000 cm^{-1} مشاهده شد و یک پیک تیز دیگر در 589 cm^{-1} دیده شد که به ارتعاش کششی Fe-O نسبت داده می‌شود و قله پهن در 3452 cm^{-1} به ارتعاش‌های کششی 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، CS-MGQD در شکل ۲ نشان داده شده است. در تحلیل XRD نمونه CS، پیک‌های 2θ در $10/85$ و $20/30$ به ترتیب به صفحه‌های بلوری (۰۲۰) و (۱۱۰) تعلق دارند [۳۶]. الگوی پراش MGQD، پیک‌های پراش را در 2θ برابر 26 ، $30/25$ ، $35/7$ ، 43 ، $57/5$ و 63 نشان می‌دهد که به ترتیب با صفحه‌های بلوری (۰۰۲)، (۲۲۰)، (۳۱۱)، (۴۰۰)، (۵۱۱) و (۴۴۰) 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 خشک شده است.

نحوه محاسبه مقدار داروی بارگذاری شده در حامل‌ها

برای بارگذاری دارو در نانوکامپوزیت‌ها، ابتدا 25 mg از هر نمونه نانوکامپوزیت در داخل یک ویال پلاستیکی قرار گرفت. سپس، 25 mL از داروی MTX با غلظت 100 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 در نظر 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 mg هیدروژل بارگذاری شده با دارو در 10 mL بافر در دو pH مختلف $7/4$ و 5 غوطه‌ور شد. در فواصل زمانی مشخص، 2 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 و منحنی کالیبره کردن برای هر دو محیط بافر با محدوده غلظتی $3/125$ ، $6/25$ ، $12/5$ ، 25 ، 50 و 100 ppm از پیش تعیین شده برای دارو ثبت شد. مقدار داروی آزاد شده از معادله (۴) محاسبه شد:

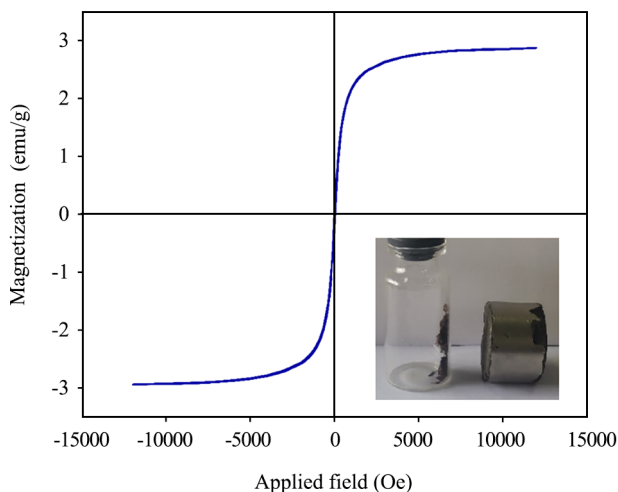
$$\text{Drug release (\%)} = \frac{\text{The amount of released drug}}{\text{The amount of loaded drug}} \times 100 \quad (4)$$

سینتیک رهایش دارو

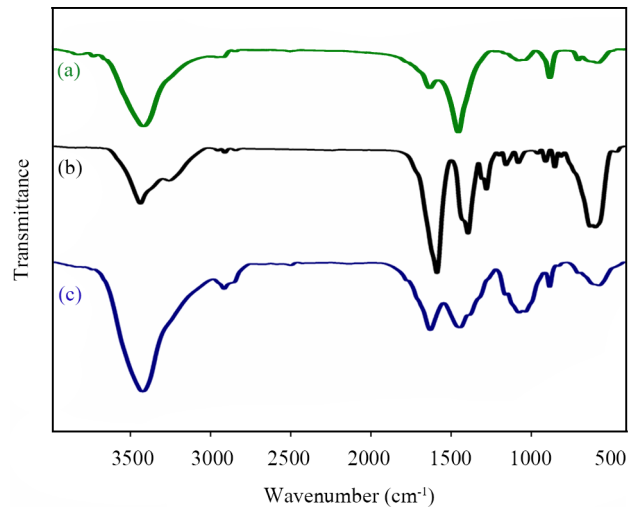
مدل‌های مختلف ریاضی و نیمه‌تجربی برای درک سازوکارهای

MTX/CS-MGQD در بزرگ‌نمایی‌های مختلف در شکل ۴ نشان داده شده است. عکس مربوط به Fe_3O_4 (شکل ۴ (a)) به وضوح 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 Fe_3O_4 روی لایه‌های ورق‌های GQD نسبت داد. عکس‌های SEM دانه‌های هیدروژل CS، CS-MGQD و MTX/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 CS-MGQD نشان داد، افزودن MGQD به ماتریس CS به تغییراتی در شکل‌شناسی دانه‌های هیدروژل CS و افزایش مناطق چروکیده منجر شده است. این ویژگی‌های فیزیکی باعث تورم خوب دانه‌های هیدروژل می‌شود و CS-MGQD را به‌عنوان حامل کارآمد برای بارگذاری و ره‌آیش دارو مؤثر می‌سازد. افزون بر این، چنین تغییراتی در شکل‌شناسی دانه‌های هیدروژل CS می‌تواند برهم‌کنش موفق بین CS و MGQD را تأیید کند. پس از بارگذاری MTX روی CS-MGQD، شکل‌شناسی 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. به‌طور خاص، هیدروژل‌ها در $pH=7/4$ بافر نمکی فسفات (PBS) و دمای $37^\circ C$ برای تقلید از محیط فیزیولوژیکی و در $pH=5$ 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



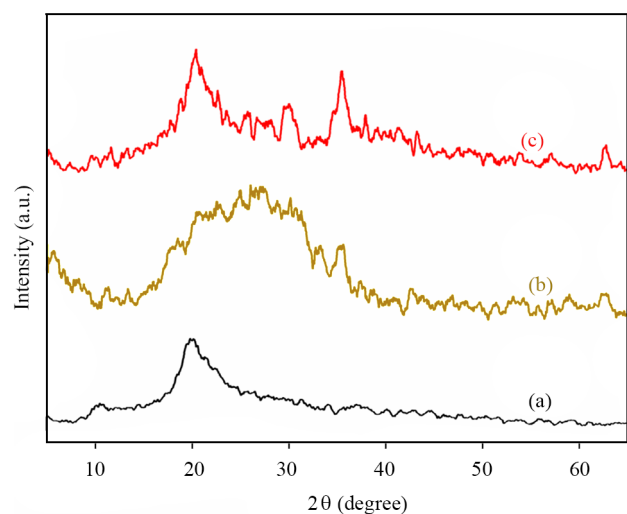
شکل ۳-آزمون تعیین خاصیت مغناطیسی دانه‌های هیدروژل CS-MGQD.
Fig. 3. VSM of CS-MGQD hydrogel beads.



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

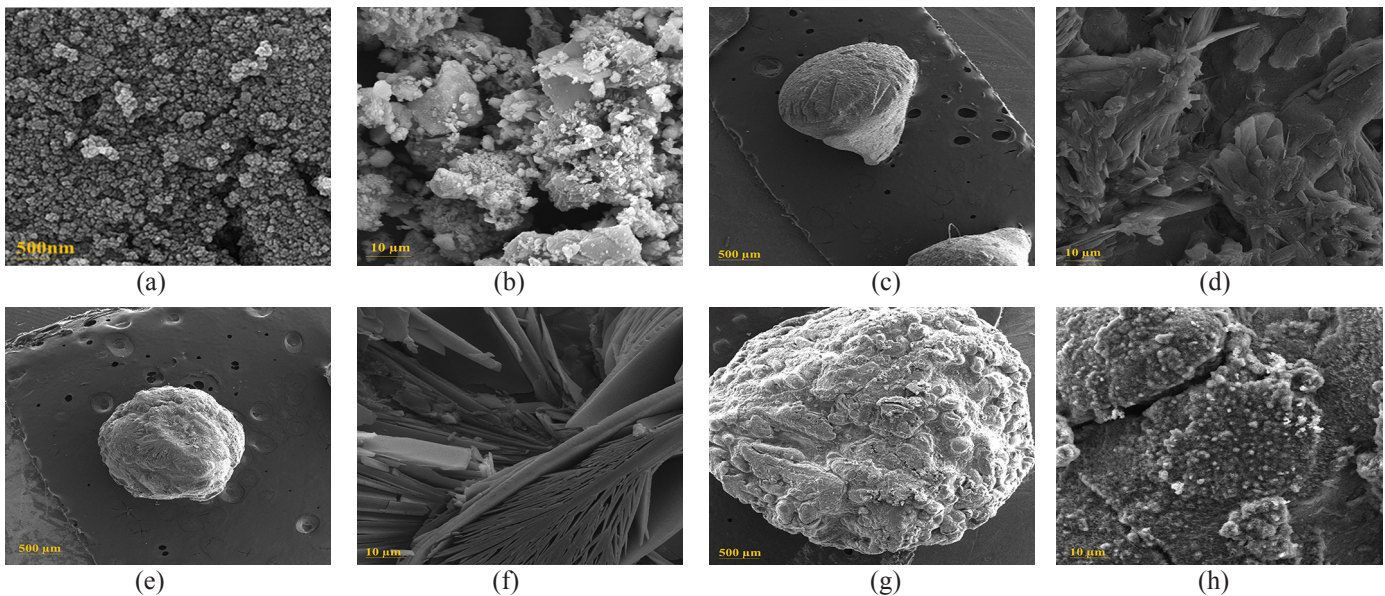
Fig. 1. FTIR spectra of (a) CS, (b) MGQD, and (c) CS-MGQD.

پراش CS و MGQD شناسایی شدند که تشکیل موفقیت‌آمیز دانه‌های هیدروژل زیست‌نانوکامپوزیت CS-MGQD را تأیید می‌کند. خاصیت مغناطیسی CS-MGQD با استفاده از مغناطیس سنج نمونه ارتعاشی (VSM) اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج، CS-MGQD 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 به‌سرعت با استفاده از آهن‌ربا جذب کرد [۳۸]. عکس‌های SEM نمونه‌های Fe_3O_4 ، MGQD، CS، CS-MGQD و



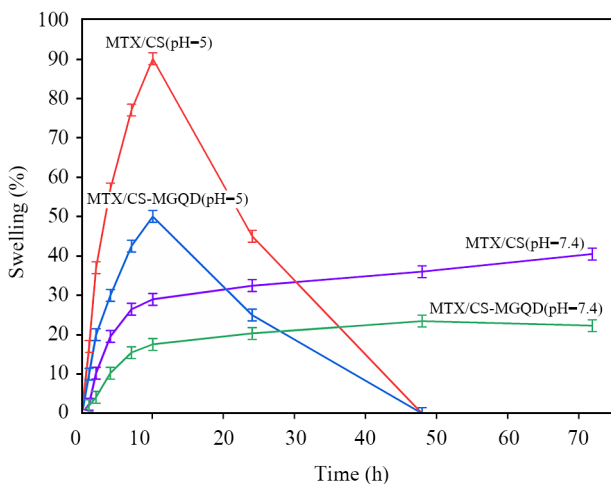
شکل ۲- الگوهای XRD نمونه‌های (a) CS، (b) MGQD و (c) CS-MGQD.

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



شکل ۴- عکس‌های SEM نمونه‌های (a) Fe_3O_4 ، (b) MGQD، (c)، (d) دانه CS، (e)، (f) دانه خالص CS-MGQD و (g)، (h) MTX/CS-MGQD.

۸۴ و ۶۴٪ از MTX را بارگذاری کردند. یافته‌ها نشان داد، افزودن 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 برابر ۵ 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



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

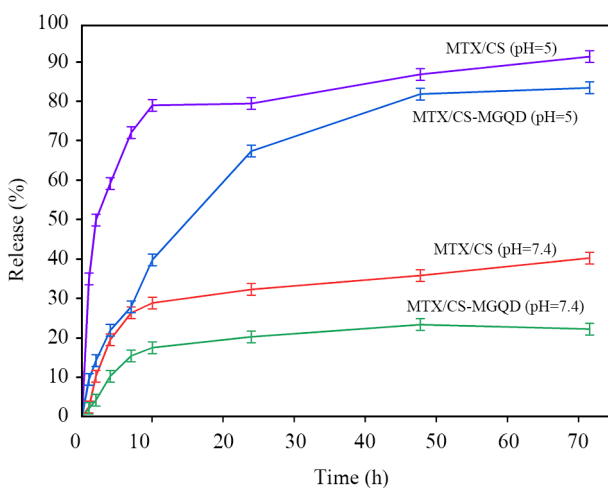
Fig. 5. Swelling behavior of MTX/CS and MTX/CS-MGQD at pH= 5 and 7.4.

وابسته به زمان را نشان دادند. افزون بر این، رفتار تورم به pH وابسته بود، نسبت‌های تورم بیشتر در مقادیرهای pH اسیدی مشاهده شد. به‌طور کلی، تورم در pH=۵ بیشتر بود. در این pH، گروه‌های آمین کیتوسان پروتون‌دار شدند که به دافعه الکتروستاتیکی بیشتر در شبکه پلیمری و افزایش تمایل به تورم منجر شد. برعکس، 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 افزایش شایان توجهی داشت که می‌تواند به دلیل حمله بخش‌های استات محیط بافر (pH=۵) به شبکه هیدروژل و بر این اساس از بین بردن اتصال عرضی فیزیکی باشد [۴۲]. نتایج تجزیه نشان داد، استحکام و پایداری هیدروژل‌ها با افزودن نانوذرات در محیط (pH=۵) افزایش یافته است (شکل ۶).

مقدار بارگذاری داروی MTX در نمونه‌ها با طیف‌سنجی UV-Vis محاسبه شد. دانه‌های هیدروژل CS و CS-MGQD به ترتیب حدود

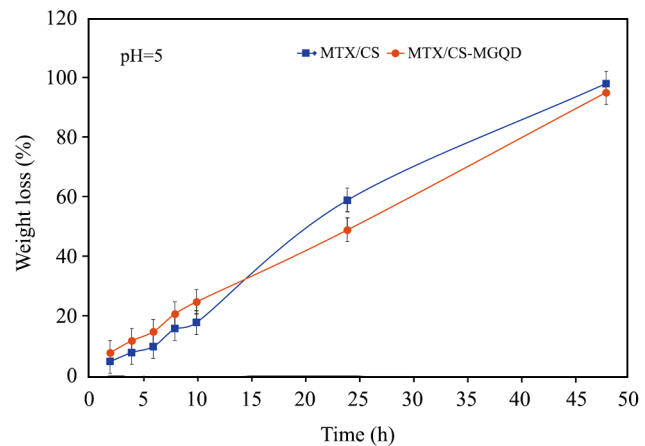
رهایش در محیط فیزیولوژیکی بدن ($\text{pH}=7.4$)، نانوکامپوزیت MTX/CS-MGQD با مقدار رهایش کم دارو به‌عنوان نمونه بهینه انتخاب شد. به‌طور مشابه، در $\text{pH}=5$ ، نانوکامپوزیت MTX/CS-MGQD مزایایی مانند رهایش کنترل‌شده، مقدار رهایش انفجاری کم و رهایش کنترل‌شده تقریباً ۸۰٪ دارو را نشان می‌دهد که آن را به انتخاب بهینه تبدیل می‌کند.

به‌کمک سینتیک رهایش دارو، نحوه رهایش دارو از MTX/CS-MGQD در شرایط pH مختلف بررسی شد. داده‌های تجربی جمع‌آوری‌شده 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 به‌طور 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} به‌ترتیب ضرایب نفوذ و راحتی هستند. نکته مهم این است که مقدار کمتر K_{d2} در مقایسه با K_{d1} برای این نانوکامپوزیت‌ها نشان می‌دهد که سازوکار آزادسازی دارو به‌طور 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 نانوکامپوزیت از رهایش Fickian پیروی می‌کند. اگر مقدار n بین ۰/۴۳ و ۰/۸۵ باشد، نشان‌دهنده رهایش Non-fickian است، در حالی که مقادیر بیش از ۰/۸۵ نشان‌دهنده انتقال مورد II است. در این مطالعه خاص، از آنجا که مقدار n در مدل Korsmeier-Peppas برای همه نمونه‌ها کمتر



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- رفتار تخریب هیدروژل‌های MTX/CS و MTX/CS-MGQD در $\text{pH}=5$.

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

نشان می‌دهد، سرعت آزادسازی MTX تحت تأثیر pH، زمان و اثر افزودن نانوذرات است. سرعت رهایش MTX از MTX/CS در محیط‌های فیزیولوژیکی ($\text{pH}=7.4$) در مقایسه با شرایط اسیدی ($\text{pH}=5$) کندتر بود. علت رهایش زیاد دارو از نانوکامپوزیت MTX/CS نسبت به نانوکامپوزیت MTX/CS-MGQD را می‌توان به مقدار بارگذاری زیاد دارو در نانوکامپوزیت 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 آب‌کافت قرار می‌گیرد که به تولید ترکیبات یونی مثبت منجر می‌شود (که 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 کنترل‌نشده 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 $\text{pH}=5$ ، نشان داد، با افزودن نانوذرات رهایش کنترل‌شده دارو مشاهده شد. این پدیده را می‌توان به افزایش پروتون‌دار شدن گروه‌های آمینه در زنجیرهای پلیمری کیتوسان نسبت داد که به افزایش وجود بارهای مثبت منجر می‌شود [۴۴]. در شرایط $\text{pH}=7.4$ ، نانوکامپوزیت‌ها نمودارهای رهایش داروی متفاوتی را نشان دادند. برای به حداقل رساندن عوارض جانبی مرتبط با دارو و محدود کردن

جدول ۱- نتایج سینتیک رهائش 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	$\frac{Q_t}{Q_\infty} = k_{d1} t^n + k_{d2} t^{2n}$	$K_{d1} = 0.093$ $K_{d2} = -2.13 \times 10^{-3}$ $n = 0.78$ $R^2 = 0.9956$	$K_{d1} = 0.193$ $K_{d2} = -8.6 \times 10^{-3}$ $n = 0.674$ $R^2 = 0.9477$
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 سنتز 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 زیست‌نانوکامپوزیتی ساخته شده با MTX بارگذاری شدند و عملکرد دارورسانی آن با کپسول‌دار کردن دارو و مطالعات رهائش دارو در شرایط آزمایشگاهی ارزیابی شد. دانه‌های هیدروژل CS و CS-MGQD حساسیت pH زیادی را در رهائش داروی MTX در pH=5 در مقایسه با pH=7/4 نشان دادند. با بررسی رهائش دارو از نانوکامپوزیت‌ها، مشاهده شد، نانوکامپوزیت MTX/CS-MGQD رهائش کم در محیط فیزیولوژیکی بدن (pH=7/4) نشان می‌دهد، در حالی که بیشترین رهش و رهش کنترل شده دارو در محیط اسیدی (pH=5) انجام می‌شود. در نتیجه، نانوکامپوزیت MTX/CS-MGQD به‌عنوان نانوکامپوزیت بهینه انتخاب شد.

از ۰/۴۳ بود، می‌توان نتیجه گرفت، سازوکار غالب در رهائش داروی MTX، رهائش Fickian است [۴۶،۴۷]. افزون بر این، سازوکار رهائش دارو از این نانوکامپوزیت در محیط بازی از مدل Weibull پیروی می‌کند. پارامتر K_b در معادله Weibull رهائش انفجاری اولیه دارو را نشان می‌دهد. به‌طور شایان توجهی، نانوکامپوزیت MTX/CS-MGQD درصد مقدار K_b کمتری را در هر دو شرایط اسیدی و قلیایی نشان داد که نشان‌دهنده کم‌بودن رهائش انفجاری اولیه دارو است. بر اساس این یافته‌ها، می‌توان استنباط کرد، نانوکامپوزیت MTX/CS-MGQD بهترین انتخاب را برای دستیابی به رهائش کنترل شده دارو ارائه می‌دهد [۴۸].

نتیجه‌گیری

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

علائم 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

- Hirsch F., Scagliotti G., Mulshine J., Kwon R., Curran W.J.Jr., Wu Y.L., and Paz-Ares L., Lung Cancer: Current Therapies and New Targeted Treatments, *Lancet*, **389**, 299-311, 2017.
- 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.
- Ghorpade V.S., Yadav A.V., and Dias R.J., Citric Acid Crosslinked β -Cyclodextrin/Carboxymethylcellulose Hydrogel Films for Controlled Delivery of Poorly Soluble Drugs, *Carbohydr. Polym.* **164**, 339-348, 2017.
- 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.
- 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.
- 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.
- Nisar S., Pandit A.H., Nadeem M., Pandit A.H., Rizvi M.M.A., and Rattan S., γ -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.
- Tao F., Ma S., Tao H., Jin L., Luo Y., Zheng J., Xiang W., and Den H., Chitosan-Based Drug Delivery Systems: From Synthesis Strategy to Osteomyelitis Treatment—A Review, *Carbohydr. Polym.*, **251**, 117063, 2021.
- 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.
- 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.
- Wang C., Zhang Z., Chen B., Gu L., Li Y., and Yu S., Design and Evaluation of Galactosylated Chitosan/Graphene Oxide Nanoparticles as a Drug Delivery System, *J. Colloid Interface Sci.*, **516**, 332-341, 2018.
- 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.
- Bharath G., Prabhu D., Mangalaraj D., Viswanathan C., and Ponpandian N., Facile in Situ Growth of Fe_3O_4 Nanoparticles on Hydroxyapatite Nanorods for pH Dependent Adsorption and Controlled Release of Proteins, *RSC Adv.*, **4**, 50510-50520, 2014.
- 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.
- Gu L., He X., and Wu Z., Mesoporous Fe_3O_4 /Hydroxyapatite Composite for Targeted Drug Delivery, *Mater. Res. Bull.*, **59**, 65-68, 2014.
- 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.
- Shen L., Li B., and Qiao Y., Fe_3O_4 Nanoparticles in Targeted Drug/Gene Delivery Systems, *Materials (Basel)*, **11**, 324, 2018.
- 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.
- 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.
- Bacon M., Bradley S.J., and Nann T., Graphene Quantum Dots, *Part. Part. Syst. Charact.*, **31**, 415-428, 2014.
- 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., and 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., and Mishra B., Methotrexate: A Detailed Review on Drug Delivery and Clinical Aspects, *Expert Opin. Drug Deliv.*, **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 Fe₃O₄ Nanoparticles Using Controlled Ammonia Vapor Diffusion under Ultrasonic Irradiation, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **50**, 3534-3539, 2011.
 29. Javanbakht S. and 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/MFe₂O₄ (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 Chlorpyrifos 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/Fe₃O₄ 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. Natl. Res. Cent.*, **43**, 1-14, 2019.
 37. Barzegarzadeh M., Amini-Fazl M.S., and Nasrizadeh H., A Rapid and Sensitive Method to Detection of Cr³⁺ by Using the Fe₃O₄@Pectin-Polymethacrylimide@Graphene Quantum Dot as a Sensitive Material, *Chem. Pap.*, 1-10, 2022.
 38. Enache A.-C., Grecu I., Samoila 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 γ -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., Pourmadadi 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 Nonswellable 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.*, **18**, 293-297, 1951.