

Synthesis and evaluation of the cytotoxic and hemolytic effects of taurine / glucosamine-functionalized graphene oxide nanosheets for doxorubicin drug delivery

Seyyed Mostafa Hosseini¹ , Parisa Miralinaghi^{1*} , Mahsasadat Miralinaghi² , Hamid Madanchi^{3*} 

¹ Dept of Pharmacy, Da.C., Islamic Azad University, Damghan, Iran

² Dept of Chemistry, VaP.C., Islamic Azad University, Varamin, Iran

³ Dept of Medical Biotechnology, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

Article Info

Article type:

Research article

Article History:

Received: May. 18, 2025

Received in revised form:

Sep. 14, 2025

Accepted: Oct. 05, 2025

Published Online: Nov. 26, 2025

* Correspondence to:

Parisa Miralinaghi

Dept of Pharmacy, Da.C.,
Islamic Azad University,
Damghan, Iran

Hamid Madanchi

Dept of Medical Biotechnology,
Faculty of Medicine, Semnan
University of Medical Sciences,
Semnan, Iran

Email:

parisa.miralinaghi@iau.ac.ir

ABSTRACT

Introduction: The most difficult part of treating cancer is dealing with the side effects of chemotherapy drugs, which are caused by their systemic toxicity. Targeted and biocompatible drug delivery systems mitigate these adverse effects by delivering drugs directly to tumor cells. This study aimed to examine the cytotoxic and hemolytic effects of graphene oxide (GO) nanosheets functionalized with taurine (Tau) and glucosamine (Glu) as a prospective nanocarrier for the drug doxorubicin (DOX).

Materials & Methods: This study modified the surface of GO with polyvinylpyrrolidone (PVP), Tau, and Glu to improve biocompatibility and targeting capability. We employed TEM imaging, EDX analysis, and FTIR spectroscopy to characterize the synthesized nanomaterial (Fe₃O₄@CGO-Tau/Glu). Its biocompatibility was assessed via an MTT cytotoxicity assay on human dermal fibroblast (HDF) cells and a hemolysis assay on red blood cells. Statistical analysis was conducted in SPSS V.18 utilizing one-way ANOVA; $p < 0.05$ was regarded as significant.

Results: TEM images and EDX analysis confirmed the successful synthesis of Fe₃O₄@CGO-Tau/Glu. The FTIR spectra revealed the physical interactions occurring between DOX and the nanomaterial. FTIR spectra showed that DOX and the nanomaterial worked well together. The viability of HDF cells subjected to Fe₃O₄@CGO-Tau/Glu at a concentration of 1000 µg/mL was 90.67%. The hemolytic activity of the nanomaterial at the same concentration was also measured at 4.72%.

Conclusion: The Fe₃O₄@CGO-Tau/Glu nanomaterial showed little cytotoxicity towards HDF cells and did not inflict considerable harm on red blood cells. Functionalizing graphene oxide nanosheets with Tau and Glu produced a nanocarrier exhibiting favorable biocompatibility and potential targeting efficacy for cancer cells in the delivery of DOX. This nanomaterial may enhance safety in cancer therapy.

Keywords: Graphene oxide, Doxorubicin, Nanocarrier, Cancer, Drug delivery

Cite this paper: Hosseini SM, Miralinaghi P, Miralinaghi M, Madanchi H. Synthesis and evaluation of the cytotoxic and hemolytic effects of taurine / glucosamine-functionalized graphene oxide nanosheets for doxorubicin drug delivery. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2025;33(5):131-145.

Introduction

Cancer remains one of the fundamental causes of death globally despite remarkable advances in diagnostic and therapeutic approaches (1). Doxorubicin (DOX), an anthracycline antibiotic, proved to be an efficacious chemotherapeutic drug and is extensively utilized in treating various types of malignancies.

Nevertheless, its therapeutic benefits are diminished due to having side effects such as heart injury and reduced blood cell production (2). DOX has a narrow therapeutic index, imprecise biodistribution, and free radical generation ability. Therefore, it is essential to develop drug delivery systems that result in better targeting and cause fewer side effects. This approach may provide patients with reduced harmful consequences from



the drug as well as offering its therapeutic effectiveness (3). Graphene oxide (GO) is a proper vehicle to deliver DOX because it has a large surface area, oxygenated functions, and thermal stability and can be dispersed suitably in water. Moreover, its surface can be modified with magnetic Fe_3O_4 nanoparticles to enable field-assisted guidance and increased drug localization (4). The conjugation of graphene oxide (GO) with taurine (Tau) and glucosamine (Glu) has shown considerable prospect in enhancing safety and selectivity, as Tau inhibits invasion and Glu facilitates selective absorption through glucose transporter pathways, which are overexpressed in cancer cells (5). This study aimed to develop and assess Fe_3O_4 @carboxylated GO nanocomposite functionalized with Tau and Glu (Fe_3O_4 @CGO-Tau/Glu) as a drug delivery vehicle for the transportation of DOX.

Methods

Analytical-grade reagents, including ferric chloride hexahydrate, ferrous chloride tetrahydrate, sodium hydroxide, chloroacetic acid, polyvinylpyrrolidone (PVP), N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride (EDC·HCl), N-hydroxysuccinimide (NHS), dimethyl sulfoxide (DMSO), ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), and 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), were purchased from Merck (Germany). Fe_3O_4 @CGO was conjugated with Tau/Glu using EDC·HCl and NHS, then washed and dried. Structural characterization was carried out using FTIR (Perkin Elmer Spectrum Two), TEM (Philips CM120), and EDX (TESCAN VEGA3). Normal Human Dermal Fibroblasts (HDFs) were obtained from the Pasteur Institute of Iran. The MTT assay was used to test cytotoxicity after 24 hours of exposure to 0.1–1000 $\mu\text{g/mL}$ of the nanocomposite at 37°C and 5% CO_2 . After incubation, the formazan crystals were dissolved in DMSO, and the absorbance intensity was measured at 545 nm to evaluate cell viability. The proportion of viable cells was determined in comparison to the untreated control group. The blood compatibility was assessed using human erythrocytes (EDTA-anticoagulated, 1:10 dilution) incubated at equivalent concentrations. Following centrifugation, the absorbance of the supernatant was recorded at 414 nm to determine the amount of hemoglobin released. The hemolysis percentage was then calculated using distilled water and phosphate-buffered saline as positive and negative

controls, respectively. Statistical analysis was performed in SPSS V.18 using one-way ANOVA; $p < 0.05$ was considered significant.

Results

TEM pictures showed that Fe_3O_4 nanoparticles were rather evenly spread out on the GO. In the EDX spectra appearance of distinct peaks for C, O, Fe, N, and S confirmed that Tau and Glu were attached to Fe_3O_4 @CGO. The FTIR spectrum of DOX exhibits characteristic peaks at 3300–3400 cm^{-1} , attributed to O–H and N–H stretching vibrations, and at 1650 cm^{-1} , assigned to the C=O carbonyl group. In the FTIR spectrum of Fe_3O_4 @CGO-Tau/Glu, characteristic peaks appeared for the hydroxyl group (O–H stretch) at around 3300 cm^{-1} and the amide group (C=O stretch) near 1650 cm^{-1} , suggesting effective surface modification and chemical bonding. Cell cytotoxicity results from the MTT assay showed that the Fe_3O_4 @CGO-Tau/ had almost no toxic effect on healthy HDF cells at concentrations ranging from 0.1 to 1000 $\mu\text{g/mL}$. At 1000 $\mu\text{g/mL}$, viability remained at 90.67%, with no significant difference compared to the untreated control group ($p = 0.763$) which indicates desirable biocompatibility. Among all tested concentrations, the cytotoxicity was negligible. This observation suggests that the nanocomposite may be safely used for drug transportation purposes. The hemolysis investigation showed that Fe_3O_4 @CGO-Tau/Glu only caused 4.72% red blood cell damage at 1000 $\mu\text{g/mL}$ which is generally considered acceptable.

Conclusion

The Fe_3O_4 @CGO-Tau/Glu exhibited uniform morphology as well as minimum cytotoxic and hemolytic activity. These findings indicate its suitability as a biocompatible carrier for DOX transport. The attachment of GO to Tau may have contributed to the observed biological compatibility, since Tau has antioxidant and membrane-protective effects. Such properties could help diminish oxidative damage to erythrocytes. The presence of Fe_3O_4 offers the nanocomposite magnetic responsiveness, allows external guidance, and causes tumor accumulation under magnetic conditions. Although the in vitro findings are relatively encouraging, further investigations are needed to determine the in vivo distribution, pharmacokinetic behavior, and long-term side effects of Fe_3O_4 @CGO-Tau/Glu in cancer models. Future research can focus on drug-release profile determination under both

physiological and tumor-like environments. Moreover, to confirm its safety, therapeutic efficacy, and practical applicability in targeted chemotherapy, a comprehensive preclinical evaluation, including animal studies, should be prioritized.

Authors' Contribution

Conceptualization: PM, Software, Supervision: PM, HM, MM, Methodology, Investigation, Data Curation, Formal Analysis: PM, HM, MM, SMH, Validation, Resources: SMH, Writing – Original Draft: SMH, PM, MM, Writing – Review & Editing: MM, HM, Visualization: MM, Project Administration: PM, MM.

Ethical Statement

This study was approved by the Ethics Committee of Islamic Azad University, Damghan branch (Semnan, Iran) (IR.IAU.DAMGHAN.REC.1402.024). The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Funding

This research has no financial support from any institution.

Acknowledgment

This work was conducted as part of a Pharm.D dissertation which written by Seyyed Mostafa Hosseini. The authors thank the all of participants and persons who help in this project.

سنتر و ارزیابی آثار سمیت سلولی و همولیتیک نانورقه‌های گرافن اکسید عامل دار شده با تائورین/گلوکز آمین برای دارورسانی دوکسوروبیسین

سید مصطفی حسینی^۱ , پریسا میرعلی نقی^{۱*} , مهساسادات میرعلی نقی^۲ , حمید معدنچی^۳ 

^۱ گروه داروسازی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

^۲ گروه شیمی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

^۳ گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۲۸

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۶/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۱۳

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۹/۰۵

مقدمه: یکی از مهم ترین چالش های درمان سرطان عوارض جانبی ناشی از سمیت سیستمیک داروهای شیمی درمانی است. سامانه های دارورسانی هدفمند و زیست سازگار با رساندن دارو به سلول های تومور از این عوارض می کاهند. پژوهش حاضر آثار سمیت سلولی و همولیتیک نانورقه های گرافن اکسید (GO) عامل دار شده با تائورین (Tau) و گلوکز آمین (Glu) را به عنوان یک نانوحامل بالقوه برای داروی دوکسوروبیسین (DOX) بررسی می کند.

مواد و روش ها: در این مطالعه، سطح GO به منظور بهبود سازگاری زیستی و هدفمند سازی، با پلی وینیل پیرولیدون (PVP)، Tau و Glu اصلاح شد. ویژگی های نانوماده سنتزی (Fe₃O₄@CGO-Tau/Glu) با تصاویر TEM، آنالیز EDX، و طیف FTIR تعیین گردید. سازگاری زیستی آن با استفاده از آزمون سمیت سلولی MTT روی سلول های فیبروبلاست پوست انسانی (HDF) و آزمون همولیز روی گلبول های قرمز خون ارزیابی شد.

نویسنده مسئول:

پریسا میرعلی نقی

گروه داروسازی، واحد دامغان،

دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان،

ایران

حمید معدنچی

گروه بیوتکنولوژی پزشکی،

دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم

پزشکی سمنان، سمنان، ایران

یافته های پژوهش: تصاویر TEM و آنالیز EDX سنتر موفق Fe₃O₄@CGO-Tau/Glu را تأیید کرد. طیف FTIR برهم کنش مؤثر DOX با نانوماده را نشان داد. میزان زنده ماندی سلول های HDF که در مقابل Fe₃O₄@CGO-Tau/Glu با غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر قرار داده شدند، ۹۰/۶۷ درصد به دست آمد؛ همچنین فعالیت همولیز نانوماده در غلظت بالا ۴/۷۲ درصد اندازه گیری گردید.

بحث و نتیجه گیری: نانوماده Fe₃O₄@CGO-Tau/Glu سمیت ناچیزی بر سلول های HDF داشت و اثر تخریبی قابل ملاحظه ای بر گلبول های قرمز خون نشان نداد. بدین ترتیب، عامل دار کردن نانورقه های GO با Tau و Glu به سنتر نانوحاملی با سازگاری زیستی مطلوب و پتانسیل هدفمندی به سلول های سرطانی برای داروی DOX منجر شده است و می تواند برای افزایش ایمنی در درمان سرطان مورد توجه قرار گیرد.

واژه های کلیدی: گرافن اکسید، دوکسوروبیسین، نانوحامل، سرطان، دارورسانی

Email:

parisa.miralinaghi@iau.ac.ir

استاد: حسینی سید مصطفی، میرعلی نقی پریسا، مهساسادات میرعلی نقی، معدنچی حمید. سنتر و ارزیابی آثار سمیت سلولی و همولیتیک نانورقه های گرافن اکسید عامل دار شده با تائورین/گلوکز آمین برای دارورسانی دوکسوروبیسین. *مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام*، آذر ۱۴۰۴؛ ۳۳(۵): ۱۴۵-۱۳۱.

مقدمه

سرطان یکی از عوامل اصلی مرگ‌ومیر در سراسر جهان به‌شمار می‌رود. با وجود پیشرفت‌های چشمگیر به‌ویژه در حوزه شیمی‌درمانی کلاسیک، نرخ مرگ‌ومیر در این بیماری همچنان بالاست و تلاش‌ها به‌منظور یافتن روش‌های درمانی جدید و مؤثر برای مقابله با آن ادامه دارد (۱). درمان‌های رایج از جمله شیمی‌درمانی، اغلب عوارض جانبی فراوانی دارند که کیفیت زندگی بیماران را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲).

دوکسوروبیسین (DOX) یکی از مؤثرترین داروهای شیمی‌درمانی است که در درمان انواع مختلف سرطان‌ها استفاده می‌شود. با این حال، این دارو عوارض جانبی جدی مانند سمیت قلبی‌کشنده و سرکوب مغز استخوان وابسته به دوز را نشان می‌دهد (۳). سازوکار اثر DOX مبتنی بر مهار آنزیم توپوایزومراز ۲ و ایجاد اختلال در ساختار DNA است (۴). روش تزریقی رایج‌ترین روش مصرف این دارو است. بدین ترتیب، DOX به‌صورت سیستمیک در بدن توزیع و اغلب به بروز عوارض جانبی ناخواسته منجر می‌شود؛ از این رو، توسعه روش‌های دارورسانی هدفمند برای این دارو که بتواند پروتئین‌ها یا گیرنده‌های خاص سطح سلول‌های سرطانی را نشانه‌گیری کند و اثر دارو بر سلول‌های سالم را کاهش دهد، اهمیت بالایی دارد (۵).

ورود نانوتکنولوژی به حوزه داروسازی، نقطه عطفی در توسعه دارورسانی هدفمند محسوب می‌شود. حامل‌های دارویی مبتنی بر فناوری نانو قابلیت‌هایی مانند حفظ غلظت دارو در سطحی ثابت برای مدت‌زمان مشخص، تنظیم دقیق سرعت آزادسازی دارو بسته به محل هدف، هدایت دارو به بافت یا ارگان خاص و امکان ترکیب چندین دارو در یک فرمولاسیون را فراهم می‌کنند (۶). نانوذرات، ذراتی هستند که حداقل یکی از ابعاد آن‌ها کمتر از ۱۰۰ نانومتر باشد (۷). استفاده از نانومواد در دارورسانی می‌تواند مشکلات درمانی و عوارض مربوط به درمان انواع سرطان‌ها را به میزان چشمگیری کاهش دهد و به بهبود نتایج درمان کمک کند (۱).

گرافن اکسید (GO) یکی از مشتقات گرافن است که به علت خواص ویژه، نظیر سازگاری زیستی، سطح وسیع، سهولت عامل‌دار شدن و پراکندگی مناسب در محیط‌های آبی توجه بسیاری از محققان عرصه نانوپزشکی را به خود جلب کرده است (۸، ۹). نانوذرات اکسید آهن (Fe_3O_4) به علت سمیت کم، هزینه تولید مناسب و تطابق با ویژگی‌های زیستی کاربردهای گسترده‌ای در زیست‌پزشکی و دارورسانی هدفمند دارند. مزدوج شدن داروهای ضدسرطان با نانوذرات مغناطیسی اثربخشی دارو را افزایش می‌دهد و امکان تحویل هدفمند دارو را به تومور فراهم می‌سازد (۱۰).

تائورین (Tau) یک اسید آمینه ضروری است که به‌صورت آزاد یا در پپتیدهای ساده یافت می‌شود (۱۱). سطوح بالای Tau خارج سلولی، سلول‌ها را در برابر مجموعه‌ای از محرک‌های آسیب‌رسان، از جمله ایسکمی خون‌رسانی مجدد، هیپرگلیسمی، گونه‌های فعال اکسیژن، شوک گرمایی، بیگانه‌زیست‌های سمی، سمیت تحریک سلولی و اختلالات اسمزی مقاوم می‌کند. این ماده می‌تواند با القای آپوپتوز، مهار متاستاز، کاهش تهاجم توموری و اثرگذاری بر مسیرهای سیگنالینگ سلولی مانع از رشد و گسترش سرطان شود (۱۲). سلول‌های سرطانی به علت نیاز متابولیک بالا، مصرف گلوکز خود را به میزان قابل‌توجهی افزایش می‌دهند و در نتیجه، بیان ناقل‌های گلوکز در سطح آن‌ها تقویت می‌شود. اصلاح سطح نانوذرات با لیگاند گلوکوزامین (Glu) امکان هدف‌گیری فعال این ناقل‌ها از طریق اندوسیتوز را فراهم می‌کند و تجمع انتخابی دارو در سلول‌های بدخیم را بهبود می‌بخشد (۱۳، ۱۴).

به‌منظور غلبه بر محدودیت‌های دارورسانی کلاسیک DOX، $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ به‌عنوان سامانه دارورسانی چندمنظوره طراحی شد. خواص مغناطیسی Fe_3O_4 امکان تحویل هدفمند دارو به تومور را تسهیل می‌کند. در عین حال، پوشش پلی‌وینیل پیرولیدون (PVP) و Tau متصل به نانوماده خاصیت زیست‌سازگاری آن را بهبود می‌بخشد. علاوه بر این، عامل‌دار شدن با Glu، با هدف بهره‌گیری از افزایش بیان ناقل‌های گلوکز در سلول‌های بدخیم، احتمال گزینش‌پذیری

دارو را افزایش می‌دهد. هدف از این مطالعه بررسی دقیق ویژگی‌های ساختاری و شیمیایی نانوکامپوزیت $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ و ارزیابی جامع سمیت سلولی و همولیتیک آن به‌عنوان یک نانوحامل بالقوه برای داروی DOX است.

مواد و روش‌ها

مواد: در این پژوهش از مواد با خلوص آزمایشگاهی استفاده شد. این مواد شامل کلرید آهن شش‌آبه، کلرید آهن چهارآبه، آمونیاک، هیدروکلریک اسید، گلوکوزامین هیدروکلراید، کلرو استیک اسید، PVP، اتیلن دی‌آمین کربودی‌ایمید هیدروکلراید ($\text{EDC} \cdot \text{HCl}$) و N-هیدروکسی‌سوکسین‌ایمید (NHS)، دی‌متیل سولفواکسید (DMSO)، اسید اتیلن دی‌آمین تتراستیک (EDTA)، ۳ (۴،۵) دی‌متیل تiazول ۲ ایل-۵،۲ دی‌فیل ترازولیوم برومید (MTT) بودند که همه آن‌ها از شرکت Merck تهیه گردیدند. DOX نیز از داروسازی سبحان انکولوژی تأمین شد. سلول‌های رده فیروبلست پوست انسان (HDF) تهیه‌شده توسط انستیتو پاستور ایران برای آزمون MTT استفاده گردیدند؛ همچنین آب دیونیزه از شرکت قطران اصفهان تهیه شد.

تجزیه و تحلیل آماری: آزمون‌های MTT و همولیز برای هر نمونه سه بار تکرار گردید. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS vol.18 استفاده و P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای بررسی نتایج و مقایسه میانگین‌های مختلف از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه ANOVA استفاده گردید.

تهیه $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$: ابتدا برای تهیه GO کربوکسیل‌دار (CGO)، ۵ گرم GO در ۱۵۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه حل و سپس ۳/۶ گرم سدیم هیدروکسید و ۷ گرم کلرواستیک اسید به آن اضافه شد. مخلوط به مدت ۹۰ دقیقه همزده و pH آن با محلول ۱۰ درصد هیدروکلریک اسید تا خنثی تنظیم گردید. رسوبات با سانتریفیوژ جداسازی و شسته شدند. در پایان، CGO در آون در دمای ۵۰ درجه سلسیوس خشک گردید (۱۵).

در مرحله بعد، ۵ گرم CGO به ۱۲۵ میلی‌لیتر آب

دیونیزه اضافه و به مدت یک ساعت همزده شد؛ سپس نمک‌های آهن و PVP به سوسپانسیون فوق افزوده و pH مخلوط تحت جو نیتروژن با استفاده از آمونیاک روی ۱۰ تنظیم گردید. آنگاه دمای واکنش به ۸۰ درجه سلسیوس در شرایط رفلاکس افزایش یافت. پس از پایان واکنش، نانورقه‌های $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO}$ با میدان مغناطیسی جداسازی، چندین بار شسته و در دمای ۵۰ درجه سلسیوس خشک شدند (۱۶).

درنهایت، نانورقه‌های $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO}$ با استفاده از Tau/Glu در حضور EDC.HCl و NHS عامل‌دار گردیدند. نانوماده $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ چندین بار با آب مقطر شسته و در آون خشک شد.

تعیین ویژگی‌های نانومواد ستر شده: به‌منظور تأیید بارگذاری داروی DOX بر $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ ، آنالیز طیف‌سنجی مادون‌قرمز تبدیل فوریه (FTIR) با استفاده از دستگاه طیف‌سنج مادون‌قرمز ساخت شرکت Perkin Elmer، مدل Spectrum Two انجام گردید. میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) شرکت Philips مدل CM120 برای بررسی ریخت‌شناسی $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ به کار رفت. به‌منظور تعیین عناصر تشکیل‌دهنده نانوکامپوزیت از روش طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس (EDX) و میکروسکوپ SEM ساخت شرکت TESCAN مدل VEGA 3 استفاده شد.

ارزیابی سمیت سلولی نانومواد: آزمون MTT روی سلول‌های رده فیروبلست پوست انسان (HDF) انجام گردید. برای ارزیابی سمیت ترکیبات مطالعه‌شده، در ابتدا سلول‌ها به تراکم 1×10^5 سلول در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه‌ای کشت شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، رطوبت کنترل‌شده و اتمسفر غنی‌شده با ۵ درصد کربن دی‌اکسید انکوبه گردیدند. پس از این دوره، محیط کشت حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی از چاهک‌ها خارج و سلول‌ها دو بار با محلول بافر فسفات سالین (PBS) شستشو داده شدند تا بقایای محیط کشت اولیه و مواد مترشحه سلولی به‌طور کامل حذف گردند.

گردند. نانومواد $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO}-\text{Tau}/\text{Glu}$ و $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO}$ در ۱۲ غلظت مختلف از ۰/۴۸ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر با استفاده از رقت های سریالی دو برابری در PBS حل شدند. هر غلظت در سه تکرار به چاهک های پلیت ۹۶ خانه میکروتیتر پلی پروپیلنی حاوی ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون گلبول ها اضافه گردید. کنترل مثبت (+C) با استفاده از یک درصد Triton X-100 در PBS و کنترل منفی (-C) تنها با PBS تهیه شد. پلیت به مدت ۱ ساعت در شیکر انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سلسیوس و سرعت ۱۰۰ rpm انکوبه گردید تا برهم کنش نانوذرات با غشای گلبول ها به صورت یکنواخت انجام پذیرد. پس از انکوباسیون، نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند تا گلبول های لیز نشده جدا گردند. در نهایت، جذب نوری محلول رویی در طول موج ۴۱۴ نانومتر با استفاده از طیف سنج فرابنفش-مرئی (مدل ۶۳۰۵، ساخت شرکت Jenway انگلستان) اندازه گیری شد (۱۸).

یافته های پژوهش

در شکل شماره ۱. الف، طیف های FTIR DOX، $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO}-\text{Tau}/\text{Glu}$ ، $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO}$ و $\text{DOX}@\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO}-\text{Tau}/\text{Glu}$ نشان داده شده است. در طیف FTIR مربوط به DOX، پیک های مشخصی در نواحی $3300-3400\text{ cm}^{-1}$ (ناشی از ارتعاشات کششی O-H و N-H) و 1650 cm^{-1} (مربوط به گروه کربونیل C=O) وجود دارد. در طیف نانوماده $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO}-\text{Tau}/\text{Glu}$ نیز پیک هایی در ناحیه 3400 cm^{-1} (مربوط به گروه های هیدروکسیل موجود بر سطح GO و PVP) و ناحیه 580 cm^{-1} (ناشی از پیوندهای Fe-O در نانوذرات Fe_3O_4) قابل مشاهده است.

با مقایسه این طیف ها، در طیف FTIR نانوماده بارگذاری شده با $\text{DOX}@\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO}-\text{Tau}/\text{Glu}$ حضور پیک های مشخصه DOX، به ویژه پیک مربوط به گروه کربونیل C=O در حدود 1650 cm^{-1} تأیید می شود. تغییرات در شدت و مکان برخی پیک ها در طیف نانوماده بارگذاری شده نسبت به طیف DOX خالص و نانوماده بدون دارو می تواند نشان دهنده برهم کنش بین مولکول های

در مرحله بعد، محیط کشت Dulbecco اصلاح شده (DMEM) حاوی غلظت های مختلف ترکیبات آزمایشی (۰/۱، ۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) به چاهک ها اضافه شد. طراحی غلظت ها به صورت لگاریتمی برای ارزیابی دوز-پاسخ در محدوده وسیع انجام گردید و سه چاهک به صورت تکراری برای هر غلظت در نظر گرفته شد؛ همچنین از بافر شستشوی ستون به عنوان گروه کنترل منفی استفاده گردید. سلول ها پس از تیمار به مدت ۲۴ ساعت دیگر انکوبه شدند تا فرایندهای سمیت سلولی به طور کامل نمایان گردند. پس از این انکوباسیون، ۱۰ میکرولیتر از محلول MTT با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر به هر چاهک افزوده شد تا آنزیم های میتو کندریایی در سلول های زنده، نمک ترازولیوم زردرنگ MTT را به کریستال های نامحلول فورمازان بنفش رنگ احیا کنند. پس از ۴ ساعت دیگر در انکوباتور، محیط حاوی MTT تخلیه و ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به هر چاهک اضافه شد تا بلورهای فورمازان حل گردند؛ سپس جذب نوری نمونه ها در طول موج ۵۴۵ نانومتر توسط دستگاه الیزاریدر (مدل ELX800TS از شرکت BIOTEK) اندازه گیری شد و داده ها با نرم افزارهای تخصصی تحلیل گردیدند تا درصد زنده مانگی و سمیت سلولی محاسبه شود (۱۷).

بررسی میزان تخریب گلبول های قرمز خون در مواجهه با نانومواد: آزمون همولیز به منظور ارزیابی آثار همولیتیک نانوکامپوزیت های $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO}$ و $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO}-\text{Tau}/\text{Glu}$ روی گلبول های قرمز خون انسانی با گروه خونی O و حاوی ماده ضد انعقاد EDTA با نسبت ۱:۱۰ انجام شد. در این آزمایش، میزان آزاد شدن هموگلوبین به محیط اطراف اندازه گیری می گردد. ابتدا ۵ میلی لیتر خون تازه با ۴۵ میلی لیتر محلول ۰/۹ درصد NaCl در لوله فالتکون ۵۰ میلی لیتری مخلوط و به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۵۰۰ rpm سانتریفیوژ شد تا گلبول های قرمز متراکم شده از پلاسما جدا گردند. محلول رویی (پلاسما) به دقت حذف و رسوب گلبول ها سه بار با محلول ۰/۹ درصد NaCl شستشو داده شد تا بقایای پلاسمایی و سایر ناخالصی ها به طور کامل حذف

DOX و سطح نانوماده باشد.

طیف های EDX نمونه $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ در شکل شماره ۱. ب نشان داده شده است. الگوی EDX نمونه $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ متشکل از عناصر کربن (C)، آهن (Fe)، اکسیژن (O)، نیتروژن (N)، و گوگرد (S) است که اصلاح سطح $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{CGO}$ با Tau/Glu را به صورت آشکار تأیید می نماید. عنصر آهن بیان کننده وجود فاز مغناطیسی Fe_3O_4 در نانوکامپوزیت $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ است. آشکار شدن پیک مربوط به عنصر گوگرد، پیوند Tau با گروه های کربوکسیل موجود در GO را تأیید می کند. حضور عنصر نیتروژن بر اصلاح سطح GO با Glu و Tau PVP دلالت دارد.

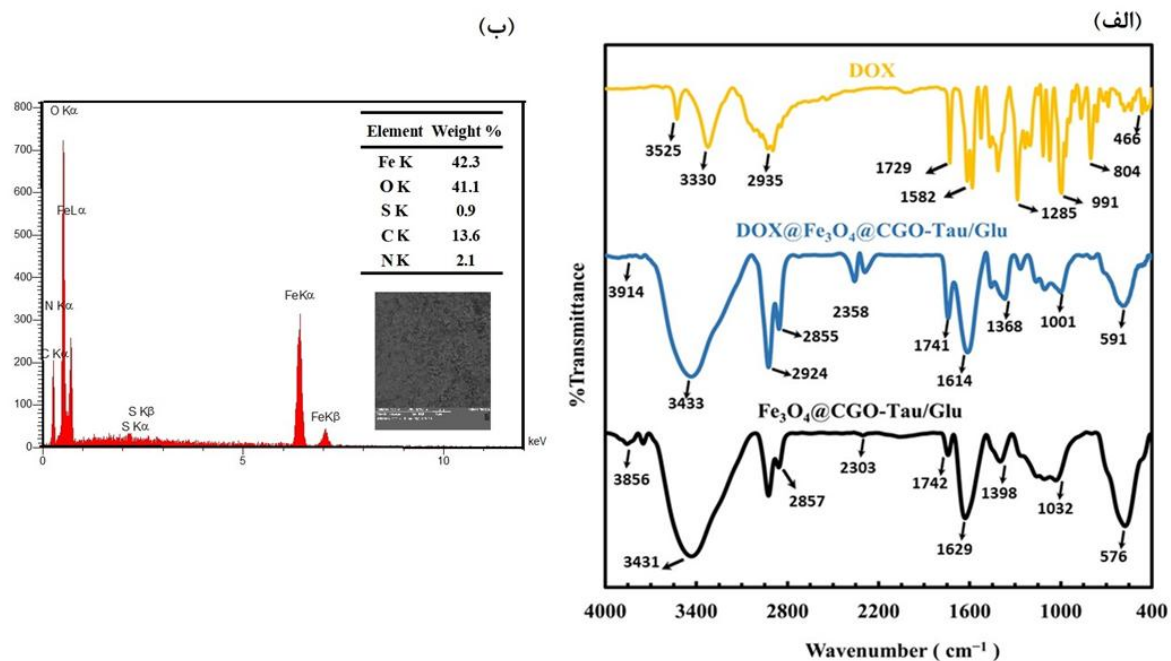
تصاویر TEM مربوط به CGO- و $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ در شکل شماره ۲ نمایش داده شده است. در این تصاویر، ساختار ورقه ای و چین خورده CGO با رنگ روشن دیده می شوند و نانوذرات مغناطیسی Fe_3O_4 به صورت نقاط تیره روی سطح و میان لایه های ورقه های CGO توزیع شده اند.

با استفاده از آزمون MTT درصد بقای سلول های HDF پس از قرار گرفتن در برابر DOX ، $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO}$ و $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ تعیین و در شکل شماره ۳ ارائه شده است. بر اساس نتایج، اصلاح سطح $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO}$ با Tau/Glu تأثیر معناداری بر زنده ماندن سلول های HDF دارد ($P \leq 0.05$). در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، میزان زنده ماندن سلولی در مواجهه با $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ و $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO}$ ، به ترتیب برابر ۹۰/۶ و ۷۳/۹ درصد است. تیمار رده سلولی با DOX سبب کاهش معنی دار بقای سلولی در مقایسه با گروه کنترل شد، در صورتی که در غلظت ۱۰

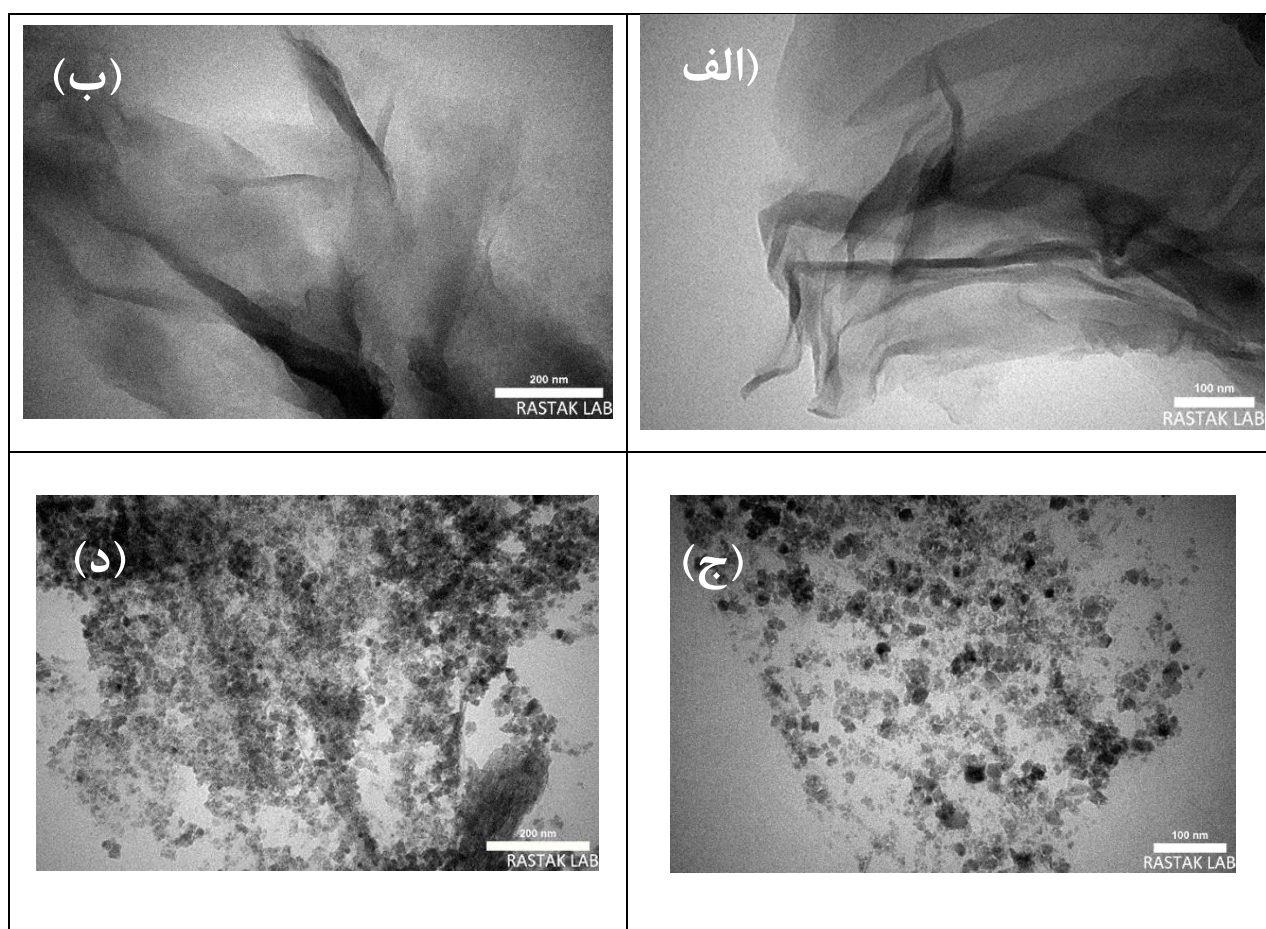
میکروگرم بر میلی لیتر، این میزان افزایش می یابد و به ۹۴/۴۹ درصد می رسد.

نانوکامپوزیت $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO}$ نیز در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، زنده ماندن سلولی حدود ۷۳/۹۷ درصد را نشان می دهد. این عدد در غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر، به ۸۳/۶۷ درصد افزایش می یابد.

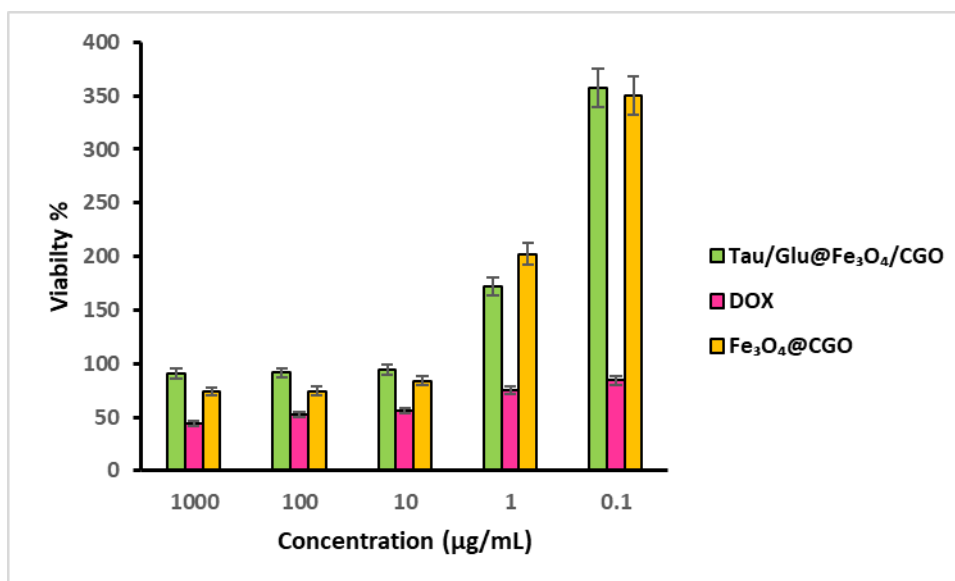
نتایج آزمون همولیز $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ و $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO}$ در شکل شماره ۴ نشان می دهد که نانوکامپوزیت نهایی در محدوده غلظت های ۰/۴۸ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، رفتار ایمن تری دارد. نانوماده اصلاح شده $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، تنها ۴/۷۳ درصد همولیز ایجاد می کند، در صورتی که این مقدار برای نانوماده اصلاح نشده $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO}$ ۱۱/۶ درصد است. در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، فعالیت همولیتیک به ترتیب ۴/۱ و ۵/۶ درصد گزارش شد. در غلظت های میانی مانند ۱۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر میزان همولیز، در نمونه اصلاح شده ۴/۵۸ و در نمونه اصلاح نشده ۴/۶۸ درصد است. در غلظت ۷/۸۱ میکروگرم بر میلی لیتر این مقادیر به ترتیب ۲/۴۵ و ۴/۱۲ درصد بود. در نهایت، در غلظت های پایین تر تفاوت ایمنی نانوماده اصلاح شده آشکارتر است؛ به طوری که در غلظت ۰/۴۸ میکروگرم بر میلی لیتر، نانوماده اصلاح شده همولیز منفی نشان داد. در مقابل، درصد همولیز نانوماده اصلاح نشده در همین غلظت، ۲/۶ است. به طور کلی، میانگین درصد همولیز برای نانوکامپوزیت اصلاح شده ۲/۷ درصد است، در حالی که نانوکامپوزیت اصلاح نشده در غلظت های بالاتر درصد همولیز بیشتری نشان می دهد.



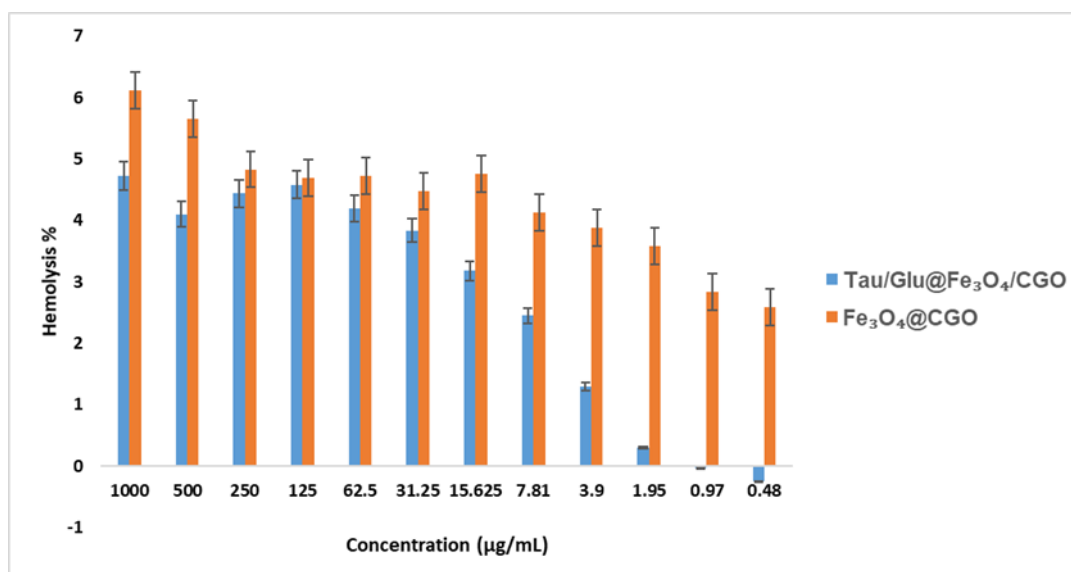
شکل شماره ۱. طیف‌های FTIR مربوط به DOX@Fe₃O₄@CGO-Tau/Glu، DOX@Fe₃O₄@CGO-Tau/Glu (الف)، طیف EDX (ب) نمونه Fe₃O₄@CGO-Tau/Glu به همراه درصد عناصر (ب)



شکل شماره ۲. تصاویر TEM با نورهای مقیاس ۱۰۰ و ۲۰۰ نانومتر برای نانوصفحات CGO با ساختار ورقه‌ای (الف، ب)، Fe₃O₄@CGO- (ج، د) با پراکندگی یکنواخت نانوذرات مغناطیسی تیره‌رنگ بر سطح CGO (ج، د)



شکل شماره ۳. اثر غلظت‌های مختلف نانوماده‌های $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@CGO}$ ، DOX، $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@CGO}$ -Tau/Glu بر زنده‌مانی سلول‌های رده فیروبلست پوست انسان (HDF) پس از ۲۴ ساعت در دمای 37°C با سطح معنی داری $p \leq 0.05$ * که بیانگر افزایش زنده‌مانی در غلظت‌های پایین نانومواد و سمیت سلولی ناچیز در غلظت‌های بالای آنها است.



شکل شماره ۴. آزمون همولیز برای نانوماده‌های $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@CGO}$ و $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@CGO}$ -Tau/Glu پس از ۲ ساعت در دمای 37°C با سطح معنی داری $P \leq 0.05$ * که مؤید زیست‌سازگاری خونی بالای نانورقه‌ها را در همه غلظت‌ها است

گردد.

بحث و نتیجه‌گیری

در این بخش، نتایج آزمایش‌های مختلف انجام شده در این پژوهش تجزیه و تحلیل می‌شود. این آزمایش‌ها شامل ارزیابی ویژگی‌های ساختاری، شیمیایی و زیست‌سازگاری نانوکامپوزیت و همچنین بررسی آثار سمیت سلولی و همولیتیک آن بوده‌اند تا امکان استفاده از این نانوکامپوزیت به عنوان یک نانوحامل ایمن برای دارورسانی DOX ارزیابی

مقایسه طیف IR نانوماده بارگذاری شده با طیف‌های DOX و نانوماده خالص (شکل شماره ۱)، نشان‌دهنده تغییراتی در شدت و مکان پیک‌ها است. کاهش شدت پیک در ناحیه $3300\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$ و تغییر در پیک ناحیه 1650 cm^{-1} در طیف $\text{DOX@Fe}_3\text{O}_4\text{@CGO}$ -Tau/Glu نسبت به DOX آزاد، نشان‌دهنده برهم‌کنش گروه‌های عاملی DOX با نانوماده

است. $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ اندکی کمتر است

در غلظت‌های پایین (۱/۱ و ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، درصد زنده‌مانی سلول‌ها در نانومواد $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO}$ و به‌ویژه $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ از ۱۰۰ درصد بیشتر است. این پدیده می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت متابولیکی سلول‌ها یا تحریک رشد ناشی از زیست‌سازگاری پوشش نانوذرات باشد (۱۹). نانوذرات زیست‌سازگار ممکن است به‌عنوان بستری مناسب برای رشد و چسبندگی سلول‌ها عمل کند و باعث افزایش تکثیر آن‌ها نسبت به گروه کنترل شده باشند. نانوماده $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ به علت زنده‌مانی سلولی بیشتر در غلظت‌های بالا می‌تواند گزینه بسیار مناسبی برای کاربردهای زیست‌پزشکی و انتقال دارو باشد. این نتایج با مطالعه پان و همکاران روی سامانه دارورسانی Tau-GO همسو است. آنان گزارش کردند که این سامانه در محدوده غلظتی ۰/۱ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر سمیت سلولی قابل ملاحظه‌ای ندارد و در غلظت‌های کمتر از ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر، میزان بقا در سلول‌ها حتی افزایش می‌یابد (۲۰). این همسویی در نتایج نقش Tau را به‌عنوان یک مولکول زیست‌سازگار و مؤثر در کاهش سمیت ذاتی نانومواد کربنی تأیید می‌کند. پژوهش حاضر مبین آن است که اصلاح گرافن اکسید مغناطیسی با Tau / Glu فواید فراوانی در کاهش سمیت سلولی دارد. در مقابل، سمیت فراوان DOX در غلظت‌های مطالعه‌شده، بیان‌کننده ضرورت توسعه سامانه‌های دارورسانی برای این دارو است. در جدول شماره ۱، درصد زنده‌مانی سلولی در مواجهه با $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ با دیگر نانوحامل‌های گزارش شده برای DOX مقایسه شده است. نانوکامپوزیت سنتزی بیش از ۹۰ درصد بقای سلولی در رده HDF نشان داد. این در حالی است که سایر نانوحامل‌های بر پایه GO، در غلظت‌های پایین‌تر (۳ تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) درصد بقای کمتری (۵۰ تا ۸۶ درصد) در رده‌های سلولی سرطانی مختلف مانند MCF-7، HepG2 و HeLa گزارش کرده‌اند. البته باید توجه داشت که مقایسه مستقیم این نتایج به علت تفاوت در نوع سلول‌های به‌کاررفته محدودیت دارد؛ زیرا سلول‌های طبیعی و سرطانی ممکن است پاسخ‌های متفاوتی به

پیک گروه کربونیل (C=O) در طیف FTIR $\text{DOX}@\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ در حدود 1650 cm^{-1} ظاهر شده است که بارگذاری DOX را روی نانوماده تأیید می‌کند. این پیک که از ویژگی‌های اصلی DOX است، در طیف نانوماده خالص وجود ندارد و ظهور آن در نانوماده بارگذاری شده نشانه حضور DOX است. این تغییرات در شدت و موقعیت پیک‌ها مؤید برهم‌کنش مؤثر میان DOX و $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ است. تصاویر TEM (شکل شماره ۲) ساختار ورقه‌ای و شفاف CGO و توزیع نانوذرات مغناطیسی Fe_3O_4 به‌صورت نقاط تیره روی سطح CGO در نانوکامپوزیت $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ را نشان می‌دهد.

آنالیز EDX (شکل شماره ۱. ب) ترکیب عنصری نانوماده $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO}$ اصلاح‌شده با Tau / Glu را با دقت بالایی شناسایی کرد. آهن و اکسیژن به‌ترتیب با سهم وزنی تقریباً ۴۲/۳ درصد و ۴۱/۱ درصد، وجود نانوذرات مغناطیسی Fe_3O_4 را تأیید می‌کنند؛ کربن (۱۳/۶ درصد) ناشی از GO، نیتروژن (۲/۱ درصد) معرف واحدهای Glu و گوگرد (۰/۹ درصد) بیان‌کننده گروه‌های سولفاتی Tau است.

بر اساس نتایج آزمون MTT (شکل شماره ۳)، $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ در محدوده غلظتی ۰/۱ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، سمیت سلولی بسیار ناچیزی از خود نشان می‌دهد. نانوماده در غلظت‌های بسیار کم میزان بقا در سلول‌ها را افزایش می‌دهد. در مقابل، داروی DOX به‌عنوان یک عامل شیمی‌درمانی شناخته‌شده، با افزایش غلظت آثار سمیت سلولی قابل ملاحظه‌ای را به نمایش می‌گذارد و میزان زنده‌مانی سلولی را به‌شدت کاهش می‌دهد، به‌طوری‌که با افزایش غلظت DOX از ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، میزان زنده‌مانی از ۸۴/۴۲ درصد به ۴۴/۵۰ درصد کاهش می‌یابد.

نانوماده $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO}$ نیز رفتاری مشابه با $\text{Tau/Glu}@\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO}$ از نظر سمیت نشان می‌دهد، هرچند در غلظت‌های بالاتر، به‌ویژه ۱۰۰۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، میزان زنده‌مانی سلولی در مقایسه با

نانوذرات نشان دهند. با این حال، یافته‌های حاضر بیان‌کننده آن است که اصلاح سطح با Tau/Glu نقش مهمی در بهبود زیست‌سازگاری و کاهش سمیت سلولی نانوکامپوزیت داشته است. نتایج آزمایش همولیز نشان می‌دهد که نانوماده $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ در همه غلظت‌های مطالعه‌شده، میزان همولیز بسیار پایینی از خود نشان می‌دهند. این امر احتمالاً ناشی از آثار محافظتی Tau/Glu بر غشای گلبول‌های قرمز است. خواص آنتی‌اکسیدانی Tau می‌تواند از آسیب اکسیداتیو به غشای سلولی پیشگیری کند. در مجموع، این الگو حاکی از آن است که اصلاح سطح نانوذرات با Tau/Glu ، برهم‌کنش مخرب با غشای سلولی را کاهش می‌دهد. فعالیت همولیتیک کم نشان می‌دهد که نانوماده با غشای گلبول‌های قرمز سازگاری بالایی دارد و احتمال آسیب‌دیدگی یا پارگی سلولی در هنگام تماس با جریان خون بسیار ناچیز است. فعالیت همولیتیکی کم $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO}$ می‌تواند به سبب پوشش سطحی PVP باشد. به عنوان یک عامل پایدارکننده زیست‌سازگار، با ایجاد یک لایه محافظ آب‌دوست در اطراف نانوذرات، از برهم‌کنش‌های مستقیم میان سطح سخت نانوذرات و گرافن و غشای حساس گلبول‌های قرمز جلوگیری می‌کند. این لایه تجمع نانوذرات را به حداقل رسانده و به پایداری آن‌ها در محیط بیولوژیکی

کمک می‌کند.

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که نانوکامپوزیت $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$ ایمنی زیستی قابل قبول و سمیت سلولی اندک دارد و از این رو می‌تواند به عنوان یک نانوحامل بالقوه برای بارگذاری و انتقال داروی DOX مورد توجه قرار گیرد.

مطالعات پیشین نشان داده‌اند که نانوحامل‌های مغناطیسی می‌توانند تحت تأثیر میدان مغناطیسی خارجی در بافت هدف تجمع کنند و کارایی دارورسانی هدفمند را افزایش دهند (۲۵). در این پژوهش، تأثیر این نوع هدایت بر تجمع نانوحامل در محل تومور بررسی قرار نشد. با این حال، در مطالعات آتی می‌توان از این خاصیت برای هدایت فعال دارو به محل تومور استفاده کرد؛ همچنین علی‌رغم وجود Glu به عنوان یک لیگاند هدف‌گیرنده در ساختار نانوماده سنتزی، تأیید عملکرد انتخابی نانوکامپوزیت نسبت به سلول‌های سرطانی، نیازمند ارزیابی‌های تکمیلی است. در پژوهش‌های بعدی، بررسی اتصال نانوکامپوزیت به ناقل‌های گلوکز در سلول‌های سرطانی، تعیین میزان رهایش دارو در pH مشابه محیط بافت سالم و سرطانی، سنجش تغییرات ساختار هسته و زنده‌مانی سلول‌ها پس از تیمار با غلظت‌های مختلف نانوماده از طریق رنگ‌آمیزی دابی پیشنهاد می‌شود.

جدول شماره ۱. مقایسه سمیت نانوحامل سنتز شده در پژوهش حاضر با دیگر نانوحامل‌های گزارش شده برای DOX

نانوماده	رده سلولی	غلظت نانوماده (میکروگرم بر میلی لیتر)	بقای سلولی (درصد)	منبع
$\text{PDA}@\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{GO}$	سلول‌های سرطان سینه انسان (MCF-7)	۴	۵۰	(۲۱)
$\text{GO}@\text{Au}@\text{Fe}_3\text{O}_4$	سلول‌های سرطان سینه انسان (MCF-7)	۵/۲	۸۵	(۲۲)
Reduced $\text{GO}@\text{ZnO}$ Quantum Dots	سلول‌های سرطان کبد (HepG2)	۳	۸۶	(۲۳)
$\text{GO}@\text{SiO}_2@\text{Fe}_3\text{O}_4$	سلول‌های سرطان دهانه رحم (HeLa)	۱۰۰	۸۳	(۲۴)
$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CGO-Tau/Glu}$	سلول‌های فیبروبلاست پوست انسان (HDF)	۱۰۰۰	۹۰/۶۷	پژوهش حاضر

سپاس‌گزاری

نویسندگان از کارکنان محترم آزمایشگاه شیمی دارویی دانشگاه آزاد واحد دامغان تشکر می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که تضاد منافی در این مقاله وجود ندارد.

کد اخلاق

این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان تایید شده و کد اخلاق آن IR.IAU.DAMGHAN.REC.1402.024 است.

حمایت مالی

تحقیق حاضر بدون حمایت مالی از طرف هر گونه موسسه یا سازمانی صورت گرفته است.

مشارکت نویسندگان

سید مصطفی حسینی: تأمین مالی پروژه تحقیقاتی، انجام آزمایش‌ها، جمع‌آوری داده‌ها، تفسیر نتایج، نگارش پیش‌نویس مقاله

پریسا میرعلی‌نقی: ایده‌پردازی، طراحی مفهومی مطالعه، نظارت بر اجرای پژوهش، تدوین متدولوژی، تفسیر نتایج و نگارش پیش‌نویس مقاله

مهساسادات میرعلی‌نقی: نظارت بر اجرای پژوهش، تدوین متدولوژی، مدل‌سازی داده‌ها، بصری‌سازی و ترسیم داده‌ها، تفسیر نتایج و ویرایش نهایی مقاله

حمید معدنچی: نظارت بر اجرای پژوهش، تدوین متدولوژی، تفسیر نتایج، بازبینی و ویرایش نهایی مقاله.

References

1. Jafarpour N, Nikpassand M, Faramarzi M. Conjugation of folic acid onto poly (acrylic acid-co-allylamine)-grafted mesoporous silica nanoparticles for controlled methotrexate delivery. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2024; 96:105667. doi: 10.1016/j.jddst.2024.105667
2. Safarpour R, Pooresmaeil M, Namazi H. Folic acid functionalized Ag@MOF(Ag) decorated carboxymethyl starch nanoparticles as a new doxorubicin delivery system with inherent antibacterial activity. *Int J Biol Macromol*. 2024; 282:137096. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.137096.
3. Aziz A, Sefidbakht Y, Rezaei S, et al. Doxorubicin-loaded, pH-sensitive Albumin Nanoparticles for Lung Cancer Cell Targeting. *J Pharm Sci*. 2022; 111: 1187-96. doi: 10.1016/j.xphs.2021.12.006.
4. Bakhshi V, Poursadegh H, Amini-Fazl MS, et al. Synthesis and characterization of bio-nanocomposite hydrogel beads based on magnetic hydroxyapatite and chitosan: a pH-sensitive drug delivery system for potential implantable anticancer platform. *Polym Bull*. 2024; 81: 7499-7518. doi: 10.1007/s00289-023-05072-1.
5. Renu K, Abilash V, PB TP, Arunachalam S. Molecular mechanism of doxorubicin-induced cardiomyopathy—An update. *Eur J Pharmacol*. 2018; 818:241-53. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.10.043.
6. Jafari H, Namazi H. κ -carrageenan coated magnetic hydroxypropyl methylcellulose/chitosan nanoparticles as a pH-sensitive nanocarrier for efficient methotrexate release. *Int J Biol Macromol*. 2025; 322: 146750. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2025.146750.
7. de Araújo Lopes SC, dos Santos Giuberti C, Rocha TGR, dos Santos Ferreira D, Leite EA, Oliveira MC. Cancer treatment—conventional and innovative approaches. *IntechOpen Publication*. 2013; P. 108-9. doi: 10.5772/55290.
8. Svenson S. Dendrimers as versatile platform in drug delivery applications. *Eur J Pharm*. 2009; 71:445-62. doi: 10.1016/j.ejpb.2008.09.023.
9. Sullivan CB, Porter RM, Evans CH, Ritter T, Shaw G, Barry F, et al. TNF α and IL-1 β influence the differentiation and migration of murine MSCs independently of the NF- κ B pathway. *Stem Cell Res Ther*. 2014; 5:1-13. doi: 10.1186/scrt492.
10. Namazi H, Zeyni V, Karimi S. A l-lysine-coated graphene oxide/magnetic hydroxyapatite/cubic metal-organic frameworks for targeted and pH-controlled release of doxorubicin to cancer cells. *Mater Chem Phys*. 2024; 325: 129781. doi: 10.1016/j.matchemphys.2024.129781.
11. Shi L, Xu Z, Wu G, Chen X, Huang Y, Wang Y, et al. Up-regulation of miR-146a increases the sensitivity of non-small cell lung cancer to DDP by downregulating cyclin J. *BMC Cancer*. 2017; 17:1-14. doi: 10.1016/j.matchemphys.2024.129781.
12. Birdsall TC. Therapeutic applications of taurine. *Altern Med Rev*. 1998; 3:128-36. Pmid: 9577248
13. Schaffer S, Azuma J, Takahashi K, Mozaffari M. Why is taurine cytoprotective? *Adv Exp Med Biol*. 2003; 526:307-21. doi: 10.1007/978-1-4615-0077-3_39.
14. Zahedipour F, Dalirfardouei R, Karimi G, Jamialahmadi K. Molecular mechanisms of anticancer effects of Glucosamine. *Biomed Pharmacother*. 2017; 95:1051-8. doi: 10.1016/j.biopha.2017.08.122.
15. Kianpour B, Salehi Z, Fatemi S. Highly enhanced loading quality of curcumin onto carboxylated folate graphene oxide. *Sci Iran*. 2018; 25:1384-94. doi: 10.24200/sci.2018.20328.
16. Fernandes MTC, Garcia RBR, Leite CAP, Kawachi EY. The competing effect of ammonia in the synthesis of iron oxide/silica nanoparticles in microemulsion/sol-gel system. *Colloids Surf. A Physicochem Eng Asp*. 2013; 422:136-42. doi: 10.1016/j.colsurfa.2013.01.025.
17. Battigelli A, Ménard-Moyon C, Da Ros T, Prato M, Bianco A. Endowing carbon nanotubes with biological and biomedical properties by chemical modifications. *Adv Drug Deliv Rev*. 2013; 65:1899-920. doi: 10.1016/j.addr.2013.07.006.
18. Erbani SN, Madanchi H, Rostamian M, Rahmati S, Akbar Shabani A. First report of antifungal activity of CecropinA-Magenin2 (CE-MA) hybrid peptide and its truncated derivatives. *Biochem Biophys Res Commun*. 2021; 549:157-63. doi: 10.1016/j.bbrc.2021.02.106.
19. Pathmanapan S, Periyathambi P, Anandasadagopan SK. Fibrin hydrogel incorporated with graphene oxide functionalized nanocomposite scaffolds for bone repair — In vitro and in vivo study. *Nanomedicine*. 2020; 29: 102251. doi: 10.1016/j.nano.2020.102251.
20. Pan H, Yu Y, Li L, et al. Fabrication and Characterization of Taurine Functionalized Graphene Oxide with 5-Fluorouracil as Anticancer Drug Delivery Systems. *Nanoscale Res Lett*. 2021; 16:1-y. doi: 10.1186/s11671-021-03541-y.
21. Martínez A, Iglesias I, Lozano R, Teijón J, Blanco M. Synthesis and characterization of thiolated alginate-albumin nanoparticles stabilized by disulfide bonds. Evaluation as drug delivery systems. *Carbohydr Polym*. 2011;

- 83:1311-21. doi:
10.1016/j.carbpol.2010.09.038.
22. Karimi S, Rasuli H, Mohammadi R. Facile preparation of pH-sensitive biocompatible alginate beads having layered double hydroxide supported metal-organic framework for controlled release from doxorubicin to breast cancer cells. *Int J Biol Macromol*. 2023; 234:123538. doi:
10.1016/j.ijbiomac.2023.123538.
23. Toporovska L, Turko B, Savchak M, Seyedi M, Luzinov I, Kostruba A, et al. Zinc oxide: reduced graphene oxide nanocomposite film for heterogeneous photocatalysis. *Opt Quant Electron*. 2020; 52:1-12. doi: 10.1007/s11082-019-2132-1.
24. Fabian DK, Fuentealba M, Dönertaş HM, Partridge L, Thornton JM. Functional conservation in genes and pathways linking ageing and immunity. *Immun Ageing*. 2021; 18:23. doi: 10.1186/s12979-021-00232-1.
25. Shanehsazzadeh S, Lahooti A, Hajipour MJ, et al. External magnetic fields affect the biological impacts of superparamagnetic iron nanoparticles. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2015; 136: 1107-1112. doi:
10.1016/j.colsurfb.2015.11.028.