

Research Paper

Stabilization of Doxorubicin Drug on Graphene Oxide Nanosystem and Computer simulation Study (In-Silico) on Topoisomerase II Enzyme

Sedigheh Pargaleh boroujeni,^{1,2} Nooredin Goodarzian,³ Neda Hasanzadeh,¹ Mohamad Kazem Mohammadi^{1*}

1.Department of Chemistry, Ahvaz Science and Research branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

2.Department of Chemistry, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

3.Department of Chemistry, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

Received: 2024/07/02

Revised: 2024/09/11

Accepted: 2024/09/16

Use your device to scan and read the article online



DOI:

[10.30495/jnm.2024.33626.2046](https://doi.org/10.30495/jnm.2024.33626.2046)

Keywords:

Doxorubicin, Graphene Oxide, Topoisomerase II Enzyme, Release, Nano System

Abstract

Introduction Doxorubicin is a well-known anticancer drug that has been the focus of numerous studies aimed at enhancing its efficacy and enabling targeted drug delivery, thereby transforming it into an effective nanomedicine. The objectives of this study included the stabilization of doxorubicin on a graphene oxide nanosystem and analyzing various properties related to this stabilization, as well as conducting in-silico studies of this drug on topoisomerase II enzyme. To investigate the effects of doxorubicin on the graphene oxide substrate, graphene oxide was first synthesized from graphite using the Hummers method. Following this, doxorubicin loading was achieved by sonication, thus stabilizing the drug on the substrate. Doxorubicin hydrochloride was also used as a standard.

Methods: To evaluate the properties of the stabilized drug, FT-IR, SEM, and X-ray diffraction (XRD) analyses were employed. For studying the molecular interactions of the obtained compound with topoisomerase II enzyme, molecular docking was utilized. Among Δ clusters considered for the compound, the Ψ cluster exhibited the best energy state of -2.9 kcal/mol. Furthermore, the intramolecular energy, electrostatic energy, overall internal energy, and torsional free energy at 298.15 Kelvin were reported as -1.7 kcal/mol, -0.9 kcal/mol, -1.4 kcal/mol, and -2.7 kcal/mol, respectively.

Findings: The best interactions were attributed to van der Waals, hydrogen, hydrogen-carbon, alkyl, and π -alkyl bonds. In this context, a total of 15 amino acids remained in contact with the drug. In the infrared spectrum analysis, an increased intensity of the stretching vibrations of the hydrogen atoms in the first-type aliphatic amine group was observed in the FTIR peaks, providing evidence for the drug's stabilization on the graphene substrate due to greater freedom of action of the relevant hydrogen atoms and their activation resulting from interaction with the graphene oxide substrate. Additionally, a shift in the stretching vibration position of the carbonyl group from 1600 cm^{-1} towards lower wavenumbers was observed due to the attack of the lone pair electrons of the oxygen atoms on the carbonyl backbone of the doxorubicin molecules. According to SEM and FESEM spectra, the stabilized drug on both GO and rGO samples exhibited a roughly layered and heterogeneous structure. After the reduction process, the rGO structure appeared as more uniform and smoother sheets, which was attributed to the reduction of oxygen groups in rGO, leading to increased uniformity and reduced surface roughness. XRD data revealed a strong peak in GO

corresponding to the interlayer spacing (d-spacing), indicating a layered structure and the presence of oxygen groups on the GO surface. Conversely, in the XRD spectrum of rGO, a peak around 2θ - 2ψ degrees was observed, reflecting the reduction of the interlayer spacing (d-spacing) due to the removal of oxygen groups and increased structural uniformity.

The diffraction pattern of rGO displayed a simpler and more uniform spectrum, signifying improved crystalline structure and reduced systemic defects. Based on the favorable instrumental results and in-silico studies on topoisomerase II, along with the high importance of biocompatibility of drug carriers, the superiority of the stabilized doxorubicin drug on the graphene oxide nanosystem compared to the initial drug is evident, and the recent compounds can be considered suitable candidates for further improving cancer patients' treatment and controlling their diseases.

Citation: Sedigheh pargaleh boroujeni, Nooredin Goodarzian, Neda Hasanzadeh, Mohamad Kazem Mohammadi, Stabilization of Doxorubicin Drug on Graphene Oxide Nanosystem and Computer simulation Study (In-Silico) on Topoisomerase II Enzyme, Quarterly Journal of New Materials. 2024; 15 (55): 22-43.

***Corresponding author:** Mohamad Kazem Mohammadi

Address: Department of Chemistry, Ahvaz Science and Research branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

Tell: +989173014710

Email: mkmohamadi@gmail.com

Extended Abstract

Introduction

Targeted drug delivery is a set of activities that lead to the accumulation of drugs in a specific area of the body [1]. Depending on the location of the disease, these activities may cause the drug to reach a specific organ, a specific type of cell, or even some intracellular organelles. The main advantage of using targeted drug delivery is increasing the therapeutic effects of drugs without inducing side effects on healthy tissues or cells [2]. Nowadays, many researchers have devoted their studies to the development of targeted drug delivery strategies for the treatment of diseases threatening humans [3].

Graphene oxide is one of the widely used nanostructured compounds in the field of producing smart drug carriers [4,5]. The surface modification of graphene oxide with various compounds has been studied and studied a lot in order to increase the efficiency of drug loading and stabilization on it [6]. In this study, this compound was used to load the anticancer drug doxorubicin. Lung, bronchus, breast and colorectal cancers are the most common causes of fatal cancers in women. According to statistics published in 2010, breast cancer alone accounts for 28% of all cancers in American women [7,8].

In continuation of the comprehensive research in drug delivery of nanoparticles in 2022, a comprehensive and detailed investigation of nanoparticles in drug delivery and the use of graphene oxide for drug loading was carried out. These studies showed that nanoparticles can effectively help in targeted drug delivery and have the potential to be used in the treatment of cancers.

In this regard, research on the loading of doxorubicin drug on graphene oxide nanoparticles and investigating the in-silico properties of this nano drug seemed necessary for several reasons:

Findings and Discussion

Preparation of graphene oxide as a drug carrier

The modified method of Homoz and Afman (2010) was used for the synthesis of graphene oxide from natural graphite powder. Briefly, graphite (0.5 g), sodium nitrate NaNO_3 (0.5 g) and 23 ml of concentrated sulfuric acid (as the main solvent and to acidify the reaction medium) for 1 hour in an ice water bath They were mixed at 4 °C. The pH of the solution was adjusted to about 8. This pH helps to maintain the balance in the oxidation process and prevent the decomposition of graphene oxide. Therefore, phosphoric acid was used to adjust the pH and to improve the properties of graphene oxide, and to increase the pH to 8 (alkaline), alkaline solutions of sodium hydroxide (NaOH) were used to prevent decomposition and improve the process. Oxidation was done. Then 1.5 grams of potassium permanganate was slowly added to it and the solution was stirred for one day at 35°C. 23 ml of distilled water was slowly added to the above mixture and the reaction mixture was stirred for 30 minutes with increasing temperature (with a ramp of 1°/s so that the temperature does not exceed 98°C). Finally, 5 ml of 30% hydrogen peroxide (H_2O_2) and 70 ml of deionized water were added to the mixture. The reaction mixture was filtered and washed several times with 3% hydrochloric acid solution and deionized water. This process was done several more times with a centrifuge. Finally, the resulting brown solid was dried in a vacuum oven.

Reduction of graphene oxide

Graphene oxide is usually not thermally stable, and for this reason, it is partially reduced to increase the ratio of carbon atoms to oxygen. Chemical, thermal and multi-stage regeneration are among the methods of reducing graphene oxide and preparing rGO. Generally, thermal and chemical regeneration are done in one step. In this research, chemical reduction with sodium borohydride was used to prepare rGO from GO (30). The regeneration of GO with this effective method to produce rGO can improve the electrical and structural properties of graphene. The reaction conditions including temperature, pH and applied time must be carefully controlled to maximize the quality of

rGO. The relevant regeneration was done at room temperature (26°C). The pH of the solution can be controlled. In order to facilitate the reduction process and by adjusting the ratio of sodium borohydride to GO, the pH was set in an alkaline state (between 9 and 10). The time required for the reduction of GO to rGO was considered to be 2 hours. For this, GO was dissolved in deionized water and then sodium borohydride was slowly added to the solution. The mixture was kept under constant stirring until the reaction was homogeneous. After the completion of the reaction time, the solution was kept at room temperature for 1 hour to consume any residual sodium borohydride. Then, the mixture is washed with water to obtain pure rGO.

Drug loading

In order to load the drug doxorubicin on the drug carriers based on graphene oxide and reduced graphene oxide, first, 2 ml of phosphate buffer along with 6 mg of nanocomposite (based on graphene oxide and reduced graphene oxide) were subjected to ultrasound for 5 minutes. Agitation and uniform dispersion of the nanocomposite in the liquid helps.

Next, 10 ml of doxorubicin drug solution with a concentration of 0.5 mM was added to the nanocomposite suspension. Then, the suspension was mixed with a magnetic stirrer for 18 hours in a dark environment. This action helps to effectively load the drug doxorubicin on the graphene oxide-based drug carriers and reduces its degradation by preventing the drug from disintegrating against light.

After the end of the loading process, the final product was washed with a centrifuge, which helps to remove excess and non-loaded materials. Finally, the supernatant solution was used to determine the yield and efficiency of drug loading. The drug loading percentage is calculated from the following equation.

$$\text{Interest loading} = (W_1 - W_2) / W_{ad} \times 100$$

In this equation, W1 and W2 are, respectively, the initial weight of the drug in the loading

solution and the weight of the unloaded drug, and the difference between these two values is the weight of the loaded drug, and W_{ad} is the weight of the adsorbent for loading the drug.

Conclusion

According to the proven effects of the drug doxorubicin, there is a need for extensive research on improving the performance of this drug and turning it into a nano drug. molecular structure and create steric hindrance, act.

There are different types of drug release systems, and one of the newest and most advanced types of drug release systems are systems that use nanostructured carriers in the design. In-silico simulation studies were used to determine the efficacy of doxorubicin.

Molecular simulation is a method used to understand the type of interaction between the desired molecule and macromolecules such as enzymes. Since both computational and experimental methods play a fundamental role in drug development, molecular docking has become a new tool for the development of molecular biological studies. Affinity factor indicates the strength of interactions of molecular ligands in the corresponding binding site to the desired macromolecule through various van der Waals, hydrogen and ionic chemical bonds. Among the 50 clusters considered for composition, the 40th cluster had the best energy state of -2.9. Also, the amount of intramolecular energy, electrostatic energy, total internal energy and torsional free energy corresponding to it at the temperature of 298.15 K are -18.6 kcal/mol, -0.91 kcal/mol, and -4.14 kcal/mol. kcal/mol were 3.28. Van der Waals, hydrogen, hydrogen-carbon, alkyl and - π alkyl bonds showed the best interaction.

In the desired compound, the two-dimensional structure obtained shows that the best interactions are the result of van der Waals, hydrogen, hydrogen-carbon, alkyl and py-alkyl bonds (Figures 3 and 4).

The measured hydrophobic structure showed the greater tendency of amino acid tryptophan 34 (TYR34) to the non-aromatic part and alanine 64 (ALA64) and phenylalanine 80 (PHE80) to the aromatic part of the corresponding ligand, which can be attributed to the anisotropy properties of the aromatic part of the corresponding ligand. and its reaction with amino acids with polarity is proportional to this part.

In the investigations related to FTIR, the presence of the stretching vibration of the carbonyl group at 1720 cm^{-1} , the stretching vibration of the aromatic ring hydrogens at 3117 cm^{-1} and also the stretching vibration of the hydrogen bonds of the hydroxyl group at 2500-3500 cm^{-1} in the FTIR spectrum indicate the success in preparing It had graphene oxide and reduced graphene oxide. As can be seen in Figure 5, the peaks related to the stretching vibration of aromatic ring hydrogens as well as C=C bonds in graphene oxide were well representative of the high purity graphene oxide structure. After loading the drug on the carrier, we saw more occurrence of stretching vibration of hydrogens of the first type aliphatic amine group in the position of FTIR peaks. Regarding the appearance of this peak in the region of 3400 which is a broad peak, it can be said that the corresponding peak is a stretching peak and medium in intensity (similar to hydroxyl peaks) that this intensity and location under pure and stabilized conditions in two the revived and non-

revived state is slightly different. The greater intensity of this peak in the state of non-reduced graphene oxide can be due to the greater freedom of action of the corresponding hydrogens in the non-reduced form compared to the reduced form. Also, the more active of these hydrogens due to the interaction with the graphene oxide substrate compared to the pure drug can also be a factor for the higher intensity of the corresponding peak. Therefore, the increase in the intensity of the peak related to the amino group (3385 cm^{-1}) in doxorubicin after loading it on the carrier is another proof of the formation of appropriate interactions between the drug and the carrier in the drug loading stage. The stretching vibration of the carbonyl group also had a slight increase in the peak in the region of 1608 cm^{-1} , which also indicated the interaction between the functional groups in doxorubicin with graphene oxide.

Ethical Considerations compliance with ethical guidelines

The cooperation of the participants in the present study was voluntary and accompanied by their consent.

Funding

The research was supported by the authors.

Authors' contributions

Design experiments and perform: Sedigheh Pargaleh Boroujeni. Results and Data Analysis: Nooredin Goodarzian, Neda Hasanzadeh, Mohamad Kazem Mohammadi and final writing: Mohamad Kazem Mohammadi

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest

مقاله پژوهشی

تثبیت داروی دوکسوروبیسین بر بستر نانو سیستم گرافن اکساید و مطالعه شبیه سازی رایانه ای (In-Silico) بر آنزیم توپوایزومراز II

صدیقه پרגاله بروجنی^۱، نورالدین گودرزیان^۲، ندا حسن زاده^۳، محمد کاظم محمدی^{۳*}

۱. گروه شیمی، واحد علوم و تحقیقات خوزستان، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

۲. گروه شیمی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

۳. گروه شیمی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

چکیده

مقدمه: دوکسوروبیسین یکی از داروهای ضد سرطان می باشد که مطالعات متعددی در جهت بهبود عملکرد و دارورسانی هدفمند و تبدیل آن به یک نانوداروی موثر صورت گرفته است. از اهداف این مطالعه، تثبیت داروی دوکسوروبیسین بر بستر نانو سیستم گرافن اکساید و بررسی آنالیزهای مختلف بر روی خصوصیات مربوطه در این راستا و همچنین مطالعه درون رایانه ای (in-silico) این دارو بر آنزیم توپوایزومراز II بود. به منظور بررسی داروی دوکسوروبیسین بر روی بستر گرافن اکساید، در ابتدا گرافن اکساید مورد نیاز با استفاده از گرافیت و با روش هومرز^۱ تهیه گردید. پس از آن، بارگذاری داروی دوکسوروبیسین با تابش دهی فراصوت بر روی آن انجام گرفته و داروی مورد نظر بر این بستر تثبیت گردید. دوکسوروبیسین هیدروکلرید نیز به عنوان استاندارد به کار برده شد.

روش: جهت بررسی خصوصیات داروی تثبیت شده، از آنالیزهای FT-IR، SEM و الگوی پراش اشعه ایکس (XRD) استفاده گردید. جهت مطالعه برهمکنش های ملکولی ترکیب بدست آمده بر روی آنزیم توپوایزومراز II، از داکینگ ملکولی استفاده گردید. در همین راستا از بین ۵۰ کلاستر در نظر گرفته برای ترکیب، کلاستر ۴۰ ام، دارای بهترین حالت انرژی به میزان ۲/۹- بود. همچنین مقدار انرژی درون مولکولی، انرژی الکتروستاتیک، انرژی درونی کلی و انرژی آزاد پیشگی مربوط به آن در دمای ۲۹۸.۱۵ کلوین به ترتیب $-۶/۱۸$ kcal/mol، $-۰/۹۱$ kcal/mol، $-۴/۱۴$ kcal/mol و $-۳/۲۸$ گزارش گردیدند. بهترین برهمکنش ها در نتیجه پیوندهای واندروالس، هیدروژنی، هیدروژن-کربن، آلکیلی و π - آلکیلی صورت پذیرفت. در همین راستا تعداد 13 اسید آمینه در پیوند با دارو باقی ماندند.

یافته ها: در بررسی طیف مادون قرمز بروز بیشتر ارتعاش کششی هیدروژنهای گروه آمین آلیفاتیک نوع اول در موقعیت پیکهای FTIR شاهدهی بر تثبیت دارو بر بستر گرافن بود که به دلیل آزادی عمل بیشتر هیدروژنهای مربوطه و فعال تر شدن آنها در اثر برهمکنش با بستر گرافن اکساید، شاهد افزایش شدت این پیک در حالت غیر احیا شده بودیم. همچنین جایجایی در مکان ارتعاش کششی گروه کربونیل در ۱۶۰۸ cm^{-1} به سمت اعداد موج پایین تر در نتیجه حمله جفت الکترونهای اتم های اکسیژن به بنیان کربونیل های مولکول های دوکسوروبیسین مشاهده گردید. بر اساس طیفهای SEM و FESEM، داروی تثبیت شده بر روی دو نمونه GO و rGO دارای ساختار حدودا لایه ای و ناهمگن گزارش گردیدند. پس از فرآیند احیا، ساختار rGO به صورت ورقه های یکنواخت تر و صاف تر دیده شد که از دلایل آن کاهش گروه های اکسیژن در rGO بود که منجر به افزایش یکنواختی و کاهش زبری سطح می شد.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۱۲

تاریخ داوری: ۱۴۰۳/۰۶/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۲۶

از دستگاه خود برای اسکن و خواندن مقاله به صورت آنلاین استفاده کنید



DOI:

[10.30495/jnm.2024.33626.2046](https://doi.org/10.30495/jnm.2024.33626.2046)

واژه های کلیدی:

دوکسوروبیسین، گرافن اکساید، آنزیم توپوایزومراز ۲، رهایش، نانو سیستم

¹ -hammer method

نتیجه گیری: بر طبق داده های طیف XRD، در GO شاهد پیک قوی بودیم که مربوط به فاصله بین لایه ای (d-spacing) و نشان دهنده ساختار لایه ای و وجود گروه های اکسیژن در سطح GO بود. از سوی دیگر در طیف XRD-rGO نیز شاهد پیک در حدود ۲۶-۲۷ درجه بودیم که بیانگر کاهش فاصله بین لایه ای (d-spacing) می باشد که به دلیل حذف گروه های اکسیژن و افزایش یکنواختی ساختار است. در الگوی پراش rGO شاهد طیفی ساده تر و یکنواخت تر بودیم که نشان دهنده ساختار بلوری بهبود یافته و کاهش نواقص سیستمی بود. با توجه به نتایج مطلوب داد های دستگاهی و مطالعه درون رایانه ای بر روی آنزیم توپوایزومراز ۲ و اهمیت بالای زیست سازگاری حامل های دارویی، ارجحیت داروی تشیت شده دوکسوروبیسین بر بستر نانو سیستم گرافن اکساید، نسبت به داروی اولیه مشهود می باشد و ترکیبات اخیر می توانند به عنوان کاندیدای مناسبی جهت بهبود هر چه بیشتر بیماران سرطانی و کنترل بیماری آنها استفاده گردند.

* نویسنده مسئول: محمد کاظم محمدی

نشانی: گروه شیمی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

تلفن: ۰۹۱۷۳۰۴۷۱۰

پست الکترونیکی: mkmohamadi@gmail.com

استفاده بالینی از دوکسوروبیسین همراه با اثرات جانبی حاد و تحت حاد مانند سمیت غیرقابل برگشت در قلب و سایر بافت‌ها است (۳ و ۴). و استفاده از این دارو با مشکلاتی همراه است. در طول درمان، برخی سلول‌ها به درمان مقاوم می‌شوند و یا دوز دارو در حین درمان افزایش می‌یابد و یا از چند دارو به طور همزمان استفاده می‌شود. برای کاهش سمیت بالای دارو، انواع سیستم‌های داروسازی توسعه یافته‌اند که شامل کاتژوگه‌های 'محلول دارو پلیمر، نانوذرات و میکروذرات هستند. در این میان، نانوذرات بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند زیرا روش تولید آسان‌تری دارند و می‌توان نانوذرات هدفمند را با قرارگیری لیگاندهای خاص بر روی سطح مربوطه برای اتصال به گیرنده‌های خاص سلولی و در نتیجه داروسازی هدفمند به سلولی ویژه، مورد استفاده قرار داد (۱۱).

تاکنون نشان داده شده که نانوذرات با مکانیسم‌هایی نظیر اندوسیتوز جذب داروها را افزایش می‌دهند. در همین راستا اکسید گرافن در ابعاد نانو سنتز و به عنوان حامل کوئرستین که یک ترکیب فعال فلاونوئیدی دارای خواص شناخته شده غذایی و درمانی با ساختار آروماتیک و محلولیت آبی ناچیز است، جهت داروسازی مورد بررسی قرار گرفته است (۱۲).

گرافن اکسید یکی از ترکیبات نانوساختار پرمصرف در حوزه تولید حامل‌های دارویی هوشمند است. مطالعات مختلفی بر روی اصلاح سطحی گرافن اکسید با ترکیبات مختلف نیز در راستای افزایش کارایی بارگذاری و تثبیت دارو بر روی آن وجود دارد (۱۳). با توجه به اینکه تاکنون گزارشی از قرار دادن این داروی موثر بر نانوذرات گرافن اکسید و ارتقاء عملکرد آن و بررسی ایزوترم‌های جذب و رهایش این نانودارو در مراجع علمی موجود نیست، لذا در این مطالعه، از این ترکیب برای بارگذاری داروی ضد سرطانی دوکسوروبیسین استفاده گردید. به این ترتیب که سامانه داروسازی موثر از داروی دوکسوروبیسین با استفاده از بستر گرافن اکسید مورد بررسی قرار گرفته و کنترل پایداری آن و بررسی ایزوترم‌های جذب و رهایش این نانوداروی جدید مورد مطالعه قرار گرفت.

اکسید گرافن یکی از پرکاربردترین ترکیبات نانوساختار در زمینه تولید حامل‌های هوشمند دارو است (۱۴ و ۱۵). اصلاح سطح اکسید گرافن با ترکیبات مختلف به منظور افزایش راندمان بارگذاری و تثبیت دارو بر روی آن به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۶).

با توجه به اینکه تاکنون گزارشی مبنی بر قرارگیری این دارو که بر روی نانو ذرات اکسید گرافن موثر بوده و عملکرد آن را بهبود می‌بخشد، گزارش نشده است. مطالعات زیادی در رابطه با اثرات باکتری‌کشی و غیرفعال‌سازی آن‌ها توسط دوکسوروبیسین انجام شده است و بیان شده است که مکانیسم ضدباکتریایی آن مشابه اثرات سمیت سلولی روی سلول‌های سرطانی انسان است (۱۷).

دوکسوروبیسین یکی از درمان‌های دارویی سرطان است. با توجه به اثرات ثابت شده این دارو در درمان سرطان، تحقیقات بیشتری برای بهبود عملکرد آن به کمک تثبیت آن بر روی نانوذره انجام گردیده است (۱۸ و ۱۹).

دارد، لی و یی

پروتئولیز درون غشایی تنظیم‌شده با تومورها مبارزه کند. در این فرآیند، یک پروتئین متصل به غشاء شکافته می‌شود و یک مولکول پیام‌رسان محلول را

داروسازی هدفمند در اصطلاح، مجموعه فعالیت‌هایی است که منجر به تجمع مواد دارویی در یک منطقه خاص از بدن می‌شود (۱). بسته به محل بیماری، این فعالیت‌ها ممکن است موجب رسیدن دارو به عضوی خاص، نوع خاصی از سلول و یا حتی برخی از اندامک‌های درون سلولی باشد. اصلی‌ترین مزیت استفاده از داروسازی هدفمند، افزایش اثرات درمانی دارو بدون القای عوارض جانبی بر روی بافت‌ها و یا سلول‌های سالم است (۲). امروزه بسیاری از محققان، مطالعات خود را به توسعه استراتژی‌های داروسازی هدفمند برای درمان بیماری‌های تهدیدکننده بشر اختصاص داده‌اند (۳).

به طور کلی، یک سیستم داروسازی هدفمند شامل یک دارو، یک حامل و یک لیگاند هدف‌گذاری شده است. رفتار بیولوژیک حامل و لیگاند تعیین‌کننده چگونگی جذب، توزیع، متابولیسم و جذب سلولی است. به همین دلیل، ساخت موفق یک حامل و یک لیگاند هدف‌گذاری شده موجب ارسال دارو به سلول هدف درست می‌شود (۴).

نانوفناوری پزشکی، بررسی روش‌ها و حامل‌های نانویی به منظور تشخیص، پیشگیری و یا درمان بیماری‌ها از طریق ترمیم بافت‌های آسیب دیده در سطوح مولکولی است. استفاده از نانوذرات برای کاربردهای پزشکی روز به روز در حال افزایش است و یکی از زمینه‌های استفاده از این ذرات سیستم‌های رهایش دارو نانوذرات برای درمان سرطان است. سیستم‌های رهایش دارو انواع مختلفی دارند، و یکی از جدیدترین و پیشرفته‌ترین انواع سیستم‌های رهایش دارو، سیستم‌هایی هستند که از حامل‌های نانوساختار طراحی استفاده شده است. گرافن اکسید یکی از ترکیبات نانوساختار پرمصرف در حوزه تولید حامل‌های دارویی هوشمند است (۵). اصلاح سطحی گرافن اکسید با ترکیبات مختلف در راستای افزایش کارایی بارگذاری و تثبیت دارو بر روی آن بسیار مورد بررسی و مطالعه قرار گرفته است (۶). در این مطالعه نیز، از این ترکیب برای بارگذاری داروی ضد سرطانی دوکسوروبیسین استفاده شده است. سرطان‌های ریه، برونش، سینه و کولورکتال شایع‌ترین علل سرطان‌های کشنده در زنان هستند. بر اساس آمار منتشر شده در سال ۲۰۱۰، سرطان سینه به تنهایی ۲۸ درصد از کل سرطان‌ها را در زنان آمریکایی تشکیل می‌دهد (۷ و ۸).

امروزه سرطان از جمله چالش‌های دنیای امروز محسوب می‌شود و سالانه افراد زیادی در اثر ابتلا به آن جان خود را از دست می‌دهند. داروهای استفاده شده جهت درمان معمولاً غیر اختصاصی عمل می‌کنند. در طول دو دهه گذشته، سیستم‌های داروسازی نوینی ابداع شده‌اند که تا حدودی توانسته‌اند مشکلات مربوط به تأثیرات منفی داروها را مرتفع نمایند. از جمله این سیستم‌ها، نانوذرات حاوی ترکیبات آلی و معدنی هستند. برخی از این سیستم‌ها هم اکنون راه خود را به بازار دارویی باز نموده‌اند و بسیاری دیگر مراحل پیش بالینی خود را می‌گذرانند که دوکسوروبیسین از جمله درمان‌های دارویی سرطان می‌باشد (۹ و ۱۰).

۲، که در مرکز پزشکی دانشگاه تگزاس جنوب غربی^۳ مستقر هستند، پیشنهاد می‌کنند که دوکسوروبیسین می‌تواند از طریق مکانیسمی به نام

1 -Conjugates

2 -Denard, Li and Yi

شیمیایی نانوذرات دارویی کمک کند. این رویکرد به محققان امکان می‌داد تا قبل از آزمایش‌های تجربی، ویژگی‌های نانوذرات را پیش‌بینی کنند (۲۵). در سال ۲۰۲۰، در همین راستا و برای شبیه‌سازی دارورسانی موثر، مطالعه‌ای بر روی شبیه‌سازی نوع عملکرد سیستم‌های دارورسانی با استفاده از نرم‌افزارهای پیشرفته انجام شد. پژوهشگران نشان دادند که مدل‌سازی می‌تواند به بهبود طراحی و عملکرد نانوذرات در دارورسانی کمک کند و اجرای کارآزمایی‌های بالینی را تسریع نماید (۲۶).

جهت بررسی مطالعه بارگذاری دارو بر روی گرافن اکساید در سال ۲۰۲۱، مطالعه‌ای بر روی نانوذرات گرافن اکساید و کاربرد آن‌ها در دارورسانی هدفمند انجام شد. این تحقیق نشان داد که نانوذرات گرافن اکساید می‌توانند به‌طور مؤثری داروهای ضدسرطانی را به سلول‌های هدف منتقل کنند و در عین حال از عوارض جانبی غیرضروری جلوگیری نمایند. نتایج این مطالعه به بهبود طراحی سیستم‌های دارورسانی کمک کرد (۲۷).

در ادامه تحقیقات جامع در دارورسانی نانوذرات در سال ۲۰۲۲، به بررسی جامع و دقیق نانوذرات در دارورسانی و استفاده از گرافن اکساید برای بارگذاری دارو پرداخته شد. این مطالعات نشان دادند که نانوذرات می‌توانند به‌طور مؤثری به دارورسانی هدفمند کمک کنند و پتانسیل استفاده در درمان سرطان‌ها را دارند (۲۸).

در این راستا، تحقیق در زمینه بارگذاری داروی دوکسوروبیسین بر روی نانوذرات گرافن اکساید و بررسی خواص *in-silico* این نانو دارو به چندین دلیل ضروری به نظر می‌رسید:

نوآوری در دارورسانی: با توجه به اینکه تاکنون گزارشی از استفاده از دوکسوروبیسین بر روی نانوذرات گرافن اکساید وجود ندارد، تحقیق حاضر می‌توانست به عنوان یک رویکرد نوآورانه در دارورسانی هدفمند شناخته شود و این نوآوری می‌توانست به بهبود کارایی درمان‌های ضدسرطانی کمک کند که این امر نسبت به تحقیقات قبلی مزیت خوبی محسوب می‌شد.

کاهش عوارض جانبی: استفاده از نانوذرات گرافن اکساید به عنوان حامل دارو می‌توانستند به کاهش عوارض جانبی داروهای شیمی درمانی کمک کند. این تحقیق می‌توانست به شناسایی و بهینه‌سازی روش‌های جدیدی برای کاهش عوارض جانبی داروها منجر شود.

شبیه‌سازی رایانه‌ای و بهینه‌سازی مولکول هدف: بررسی خواص *in-silico* نانو داروها می‌تواند به محققان کمک کند تا قبل از انجام آزمایش‌های تجربی، عملکرد و ویژگی‌های نانوذرات را پیش‌بینی و بهینه‌سازی کنند. این امر می‌تواند زمان و هزینه‌های تحقیق را به طور قابل توجهی کاهش دهد. همچنین استفاده از نرم‌افزارهای شبیه‌سازی برای بررسی عملکرد سامانه دارورسانی، امکان تحلیل دقیق‌تری از رفتار نانوذرات و دارو در شرایط مختلف را فراهم می‌کند. این امر می‌تواند به بهبود طراحی و توسعه سیستم‌های دارورسانی کمک کند.

آزاد می‌کند که می‌تواند در انواع فرآیندهای سلولی، از جمله آپوپتوز، متابولیسم لیپید و پاسخ به عفونت ویروسی نقش داشته باشد (۲۰).

داروی دوکسوروبیسین یک داروی شیمی درمانی آنتی‌نئوپلاستیک از خانواده آنتراسیکلین‌ها است که به عنوان یک داروی شیمی‌درمانی از گروه آنتی‌نئوپلاستیک‌ها استفاده می‌شود. این دارو به عنوان یک داروی سیتوتوکسیک عمل می‌کند، یعنی به سلول‌های سرطانی حمله کرده و آن‌ها را از بین می‌برد. به طور خلاصه، این دارو با ورود به سلول‌های سرطانی، به دی‌ان‌ای سلول متصل شده و با تشکیل ترکیبات مخرب دی‌ان‌ای، باعث تغییرات ساختاری در دی‌ان‌ای می‌شود. این تغییرات باعث مهاجمه به فعالیت‌های زیستی سلول می‌شود، از جمله مهار رشد و تقسیم سلول و ایجاد ترکیبات دی‌ان‌ای نامنظم (۲۱).

علاوه بر این، دوکسوروبیسین با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، به عنوان یک داروی آنتی‌اکسیدانت نیز عمل می‌کند که می‌تواند به محافظت از سلول‌های سالم در معرض آسیب اکسیداتیو کمک کند. این مکانیسم‌ها به طور ترکیبی باعث اثرات ضدسرطانی دوکسوروبیسین می‌شوند و آن را به یکی از داروهای موثر در درمان بسیاری از نوع‌های سرطان تبدیل کرده است (۲۲).

در گرافن اکساید (GO) ساختار دو بعدی و سطح بالای نسبت سطح به حجم GO، امکان جذب و بارگذاری مقادیر بالای داروها را فراهم می‌کند. به عنوان مثال، مطالعات نشان داده‌اند که بارگذاری داروهای ضدسرطانی مانند دوکسوروبیسین بر روی GO می‌تواند به میزان ۹۰٪ افزایش یابد. علاوه بر این، قابلیت اصلاح شیمیایی سطح GO با گروه‌های عاملی مختلف، مانند آمین‌ها و کربوکسیل‌ها، به بهبود تعاملات بین دارو و حامل کمک می‌کند. این اصلاحات می‌توانند به افزایش حلالیت داروهای هیدروفوبیک و همچنین کنترل آزادسازی دارو در شرایط خاص، مانند pH پایین تومورها، منجر شوند.

در یک مطالعه، بارگذاری کوئرستین بر روی GO نشان داد که این نانوحامل می‌تواند آزادسازی کنترل‌شده‌ای را در محیط‌های اسیدی شبیه به تومور ارائه دهد. این ویژگی‌ها، گرافن اکساید را به یک گزینه جذاب برای توسعه سیستم‌های دارورسانی هوشمند تبدیل کرده و پتانسیل آن را برای کاهش عوارض جانبی و افزایش اثر بخشی درمان‌ها به نمایش می‌گذارد. هر چند تحقیقات بیشتری در این زمینه به منظور بهینه‌سازی فرآیند بارگذاری و آزادسازی داروها ضروری است (۲۳).

به طور کلی به عنوان یک تاریخچه در زمینه استفاده از ترکیبات گرافنی برای دارورسانی، در سال ۲۰۱۰ گوپتا به کمک چند پژوهشگر دیگر به بررسی پتانسیل گرافن و نانوذرات گرافن اکساید در دارورسانی پرداختند. آن‌ها نشان دادند که استفاده از این نانوذرات می‌تواند توانایی بارگذاری داروها را افزایش دهد و بازدهی دارورسانی را بهبود بخشد. این تحقیق، اهمیت گرافن را در سامانه‌های دارورسانی نوین روشن می‌کرد (۲۴).

در تحقیقی دیگر بررسی خواص *in-silico* نانوذرات دارویی که گرافن نیز جزء آنان می‌باشد کارمد و همکارانش ۵ سال بعد یعنی در سال ۲۰۱۵، مطالعه‌ای در زمینه شبیه‌سازی *in-silico* نانوذرات انجام دادند که نشان می‌داد که این روش می‌تواند به شناسایی و بهینه‌سازی خواص فیزیکی و

اکسید به کار و جهت افزایش pH به مقدار ۸ (به سمت قلیایی)، از محلول‌های قلیایی هیدروکسید سدیم (NaOH) استفاده گردید که این کار جهت جلوگیری از تجزیه و بهبود فرآیند اکسیداسیون انجام گرفت. سپس ۱/۵ گرم پتاسیم پرمنگنات به آرامی به آن اضافه شد و محلول به مدت یک روز در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد همزده شد. به مخلوط فوق، ۲۳ میلی‌لیتر آب مقطر به آرامی اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه مخلوط واکنش همراه با افزایش دما (با رمپ ۱ درجه بر ثانیه به نحوی که دما از ۹۸ درجه سانتی‌گراد بالاتر نرود) همزده شد. در انتها، ۵ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳۰٪ (H₂O₂) و ۷۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به مخلوط اضافه شدند. مخلوط واکنش از صافی عبور داده شده و چندین مرتبه با محلول هیدروکلریک اسید ۳٪ و آب دیونیزه شستشو داده شد. این فرآیند برای چندین مرتبه دیگر همراه با سانتریفیوژ انجام گردید (۲۰). در نهایت، ماده جامد قهوه‌ای رنگ حاصل در آن خلاء خشک شد (۲۹).

گرافن اکسید معمولاً از لحاظ حرارتی پایداری بالایی ندارد و به همین دلیل آن را به طور جزئی احیا می‌کنند تا نسبت اتم کربن به اکسیژن آن بالاتر رود. احیای شیمیایی، حرارتی و چند مرحله‌ای از جمله روش‌های احیای گرافن اکسید و تهیه rGO می‌باشند. به طور کلی احیای حرارتی و شیمیایی در یک مرحله انجام می‌گردند. در این تحقیق از احیای شیمیایی با سدیم بوروهیدرید برای تهیه rGO از GO استفاده شد (۳۰). احیای GO با این روش مؤثر برای تولید rGO می‌تواند خواص الکتریکی و ساختاری گرافن را بهبود بخشد. شرایط واکنش شامل دما، pH و زمان اعمال شده باید به دقت کنترل شوند تا کیفیت rGO به حداکثر برسد. احیا مربوطه در دمای اتاق (۲۶ درجه سانتی‌گراد) انجام پذیرفت. pH محلول می‌تواند کنترل شود. به منظور تسهیل فرآیند احیا و با تنظیم نسبت سدیم بوروهیدرید به GO، pH در حالت قلیایی (بین ۹ تا ۱۰) قرار گرفت. زمان لازم برای احیای GO به rGO ۲ ساعت در نظر گرفته شد. برای این کار GO در آب دیونیزه حل شده و سپس سدیم بوروهیدرید به آرامی به محلول اضافه گردید. مخلوط تحت هم‌زدن مداوم نگهداری گردید تا واکنش به طور همگن انجام گیرد. پس از اتمام زمان واکنش، محلول به مدت ۱ ساعت در دمای محیط نگهداری شد تا هرگونه باقی‌مانده سدیم بوروهیدرید مصرف شود. سپس، مخلوط با آب شسته می‌شود تا rGO خالص بدست آید.

جهت بارگذاری داروی دوکسوروبیسین روی حامل‌های دارو بر پایه اکسید گرافن و اکسید گرافن احیاشده، ابتدا ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات به همراه ۶ میلی‌گرم نانوکامپوزیت (بر پایه اکسید گرافن و اکسید گرافن احیاشده) برای ۵ دقیقه تحت امواج فراصوت قرار گرفت (۳۰ و ۳۱). این

پتانسیل بالای درمانی: با توجه به اینکه دوکسوروبیسین یکی از داروهای مؤثر در درمان سرطان بود، بارگذاری آن بر روی نانوذرات گرافن اکسید می‌توانست به افزایش اثربخشی درمان و کاهش مقاومت دارویی کمک کند. این مزیت نسبت به تحقیقات قبلی می‌تواند به بهبود نتایج بالینی در بیماران سرطانی منجر شود.

تحقیقات بین‌رشته‌ای: این مطالعه همچنین می‌توانست به عنوان یک پل بین علوم نانو، داروسازی و شبیه‌سازی‌های کامپیوتری عمل کند و به توسعه رویکردهای جدید در درمان سرطان کمک کند. این رویکرد بین‌رشته‌ای می‌تواند به ایجاد همکاری‌های جدید در تحقیقات علمی منجر شود. با توجه به موارد ذکر شده و به علت اینکه تاکنون گزارشی چندگانه از قرار دادن این داروی مؤثر بر نانوذرات گرافن اکسید و ارتقاء عملکرد آن و بررسی خواص in-silico این نانو دارو در مراجع علمی گزارش نشده بود، لذا در این مطالعه از این ترکیب برای بارگذاری داروی ضدسرطانی دوکسوروبیسین استفاده شده و شبیه‌سازی نوع عملکرد سامانه دارورسانی مؤثر داروی دوکسوروبیسین با کمک نرم‌افزارهای مربوطه مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

گرافیت از شرکت سیگما آلدریج خریداری شد. اسید سولفوریک غلیظ با خلوص ۹۸٪، سدیم نیترات (NaNO₃)، سدیم سولفات (Na₂SO₄)، پتاسیم پرمنگنات (KMnO₄) و آب اکسیژنه ۳۰٪ (H₂O₂) از نمایندگان‌های معتبر شرکت مرک آلمان خریداری شدند. داروی دوکسوروبیسین هیدروکلرید با کد تجاری ۹-۴۰-۲۵۳۱۶ ساخت شرکت سیگما آلدریج از شرکت طب شهر خریداری شد.

مهمترین دستگاه‌های به کار رفته برای آنالیز و تعیین خواص حامل‌های دارو سنتز شده شامل دستگاه طیف‌سنجی مادون قرمز - تبدیل فوریه PIKE GladiATR attachment ساخت آمریکا در محدوده ۴۰۰-۴۰۰۰ cm⁻¹، دستگاه پراش اشعه ایکس مدل D8 ADVANCE ساخت شرکت بروکر کشور آلمان در محدوده ۱۰-۸۰° 2θ، تابش CuKα معادل ۸/۰۴ keV و طول موج ۱/۵۴° Å، دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی مدل MIRA3 بودند.

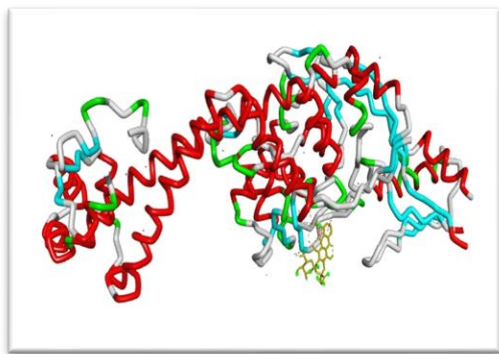
روش هموز و افمان (سال ۲۰۱۰)، اصلاح شده برای سنتز گرافن اکسید از پودر گرافیت طبیعی به کار رفت. به طور خلاصه، گرافیت (۰/۵ گرم)، سدیم نیترات NaNO₃ (۰/۵ گرم) و ۲۳ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ (به عنوان حلال اصلی و جهت اسدی کردن محیط واکنش) به مدت ۱ ساعت در حمام آب یخ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با هم مخلوط شدند. pH محلول در حدود ۸ تنظیم گردید. این pH به حفظ تعادل در فرآیند اکسیداسیون و جلوگیری از تجزیه گرافن اکسید کمک می‌کند. بنابراین در ادامه از اسید فسفریک جهت تنظیم pH و برای بهبود خواص گرافن

AutoDock 4.2، آبها و لیگاندهای غیرضروری از ساختار پروتئین حذف گردیدند. همچنین هیدروژن‌ها به ساختار پروتئین اضافه شدند تا شرایط واقعی‌تر برای داکینگ فراهم گردد. سپس لیگاند مربوطه نیز با استفاده از نرم‌افزار Hyperchem ترسیم و از لحاظ وضعیت قرارگیری پیوندهای فضایی بهینه‌سازی شد. در ادامه مطالعات داکینگ، با استفاده از نرم‌افزار AutoDock 4.2 لیگاند بهینه شده فراخوانی شد سپس تعداد ۵۰ کلاستر (کلاسترها به شناسایی و گروه‌بندی کانفورماسیون‌های مختلف لیگاند کمک می‌کنند) تعیین گردید. پس از تنظیم پارامترهای داکینگ مانند اندازه جعبه داکینگ و نوع الگوریتم (Lamarckian Genetic Algorithm) فرایند داکینگ انجام گرفت که مدت زمان لازم برای داکینگ ساختارها ۱۵ دقیقه بود و در مرحله نهایی، پس از انجام داکینگ نتایج با استفاده از Discovery Studio تحلیل گردید. برای این کار پایدارترین نتایج به دست آمده با استفاده از AutoDock و Discovery Studio مورد شبیه‌سازی و آنالیز قرار گرفتند این کار شامل بررسی تعاملات لیگاند-پروتئین، انرژی‌های اتصال و کانفورماسیون‌های بهینه بود. در آخر نیز نتایج داکینگ به صورت گرافیکی و عددی تحلیل گردیدند تا اثر لیگاند بر آنزیم توپوایزومراز II مشخص گردد.

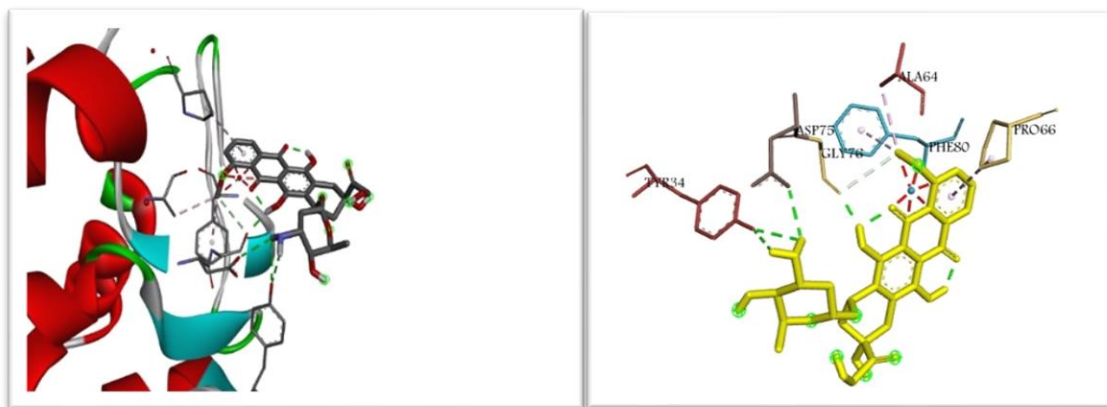
نتایج

در این تحقیق، ماکرومولکولی که مورد بررسی قرار گرفت، آنزیم توپوایزومراز II بود. برای این منظور، ۵۰ کلاستر برای ترکیب مورد بحث جهت بررسی نتایج تمایل (Kcal mol^{-1}) در نظر گرفته شدند.

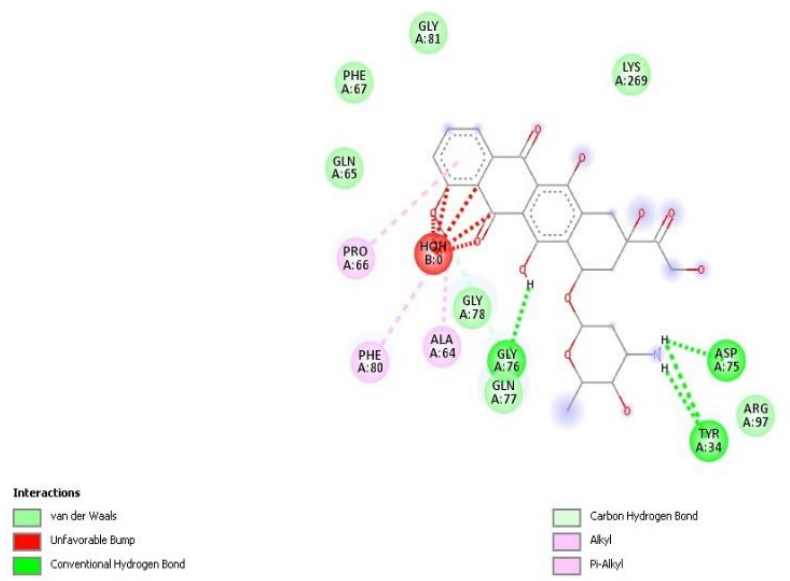
در شکل ۲ نیز نمایی از نوع پایدارترین حالت برهمکنش بین لیگاند مربوطه و ماکرومولکول قابل مشاهده است. در ترکیب مورد نظر بهترین برهمکنش‌های این ساختار در شکل ۳ نشان داده شده است.



شکل ۱- قرار گرفتن لیگاند دوکسوروبیسین در جایگاه فعال آنزیم توپوایزومراز II پس از داکینگ با نرم‌افزار AutoDock Vina (نسخه 4.2) شامل پارامترهای داکینگ شامل جعبه داکینگ $60 \times 60 \times 60 \text{ \AA}$ و شبیه‌سازی بصری به کمک Discovery Studio



شکل ۲- پایدارترین برهمکنش بین لیگاند دوکسوروبیسین و آنزیم توپوایزومراز II با استفاده از نرم افزار **AutoDock** و پارامترهای داکینگ شامل جعبه داکینگ $60 \times 60 \times 60 \text{ \AA}$ و تحلیل آن با استفاده از **Discovery Studio** (نسخه 4.2)

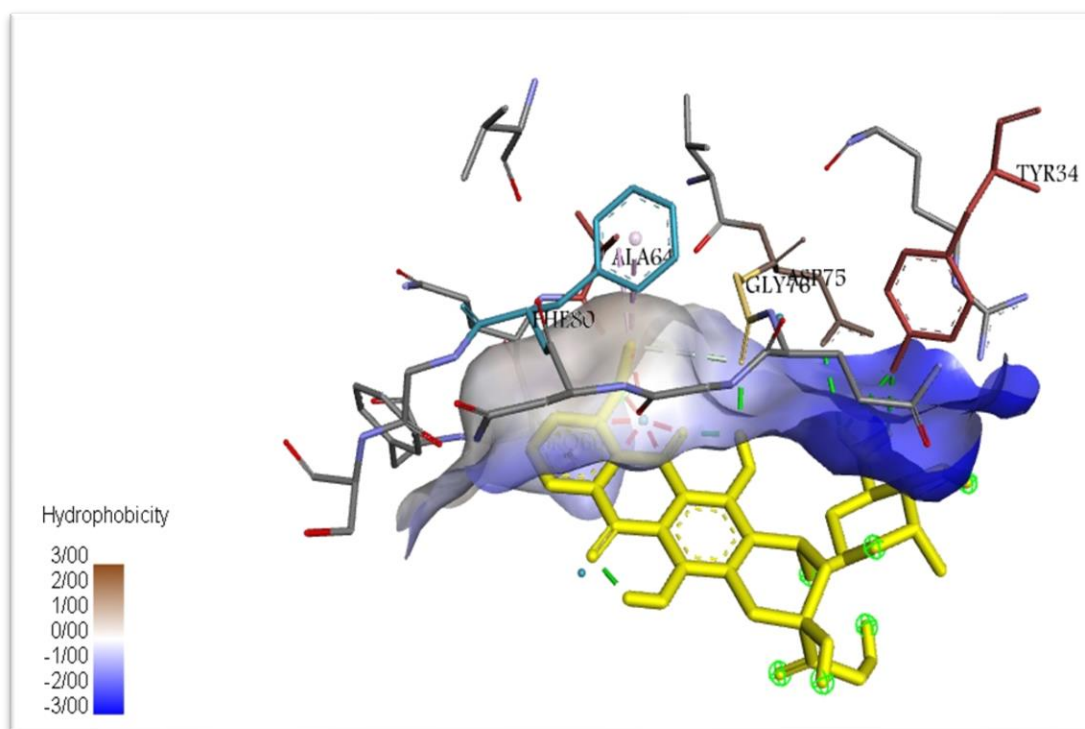


شکل ۳- اسیدهای آمینه باقی مانده حاصل از برهمکنش بین لیگاند دوکسوروبیسین و آنزیم توپوایزومراز II با استفاده از **Discovery Studio**

در شکل ۴ نیز ساختار هیدروفوبی اسیدهای آمینه به بخش آروماتیک لیگاند مربوطه نشان داده شده است. میزان برهمکنش های مربوطه به صورت گرادیان رنگی نشان داده شده است.

از لحاظ اسیدهای آمینه باقی مانده، تعداد ۱۳ اسید آمینه در پیوند با داروی مربوطه باقی ماندند که عبارتند از:

(gly a:81,phe a:67,gln a:65,pro a:66,phe a:80,ala a:64,gly a:78,gly a:76,gln a:77,asp a:75,arg a:97,tyr a:34,lys a:269)

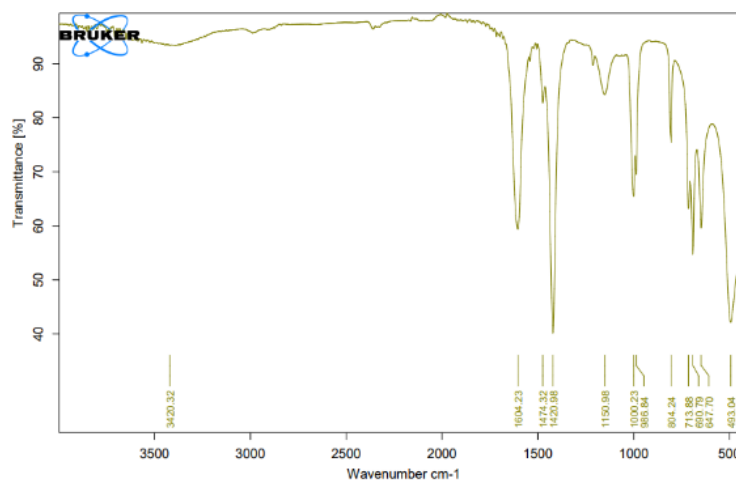


شکل ۴- نمایش اثرات هیدروفوربی لیگاند دوکسوروبیسین و اسیدهای آمینه مربوط به آنزیم توپوایزومراز II با استفاده از **Discovery Studio** و به کمک ابزار **"Hydrophobicity Surface"** و تحلیل به وسیله تحلیل **"Molecular FTIR"Interaction**

حلقه آروماتیک در 3117 cm^{-1} و همچنین ارتعاش کششی پیوندهای هیدروژنی گروه هیدروکسیل در $2500-3500 \text{ cm}^{-1}$ (شکل ۴).

طیف های FTIR **GO-DOX** (a) و **DOX** (b) در شکل ۵ مشاهده می گردد که پیک در ناحیه 1716 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی گروه کربونیل (C=O) می باشد.

برای بررسی شرایط گرافن و گرافن اکسید، آنالیزهای مختلفی از جمله FTIR انجام گردید. مهمترین و شاخص ترین پیک های ظاهر شده در طیف FTIR حامل های گرافنی تهیه شده عبارت بودند از: ارتعاش کششی گروه کربونیل در 1720 cm^{-1} ، ارتعاش کششی هیدروژن های

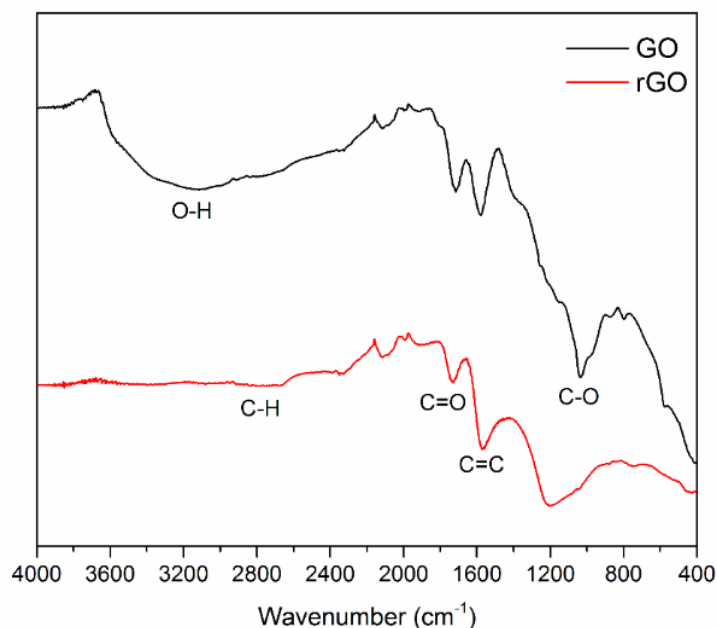


شکل ۵- طیف FTIR مربوطه به **GO-DOX** در محدوده 4000 cm^{-1} تا 400 cm^{-1} و با رزولوشن 4 cm^{-1} در مد transmittance

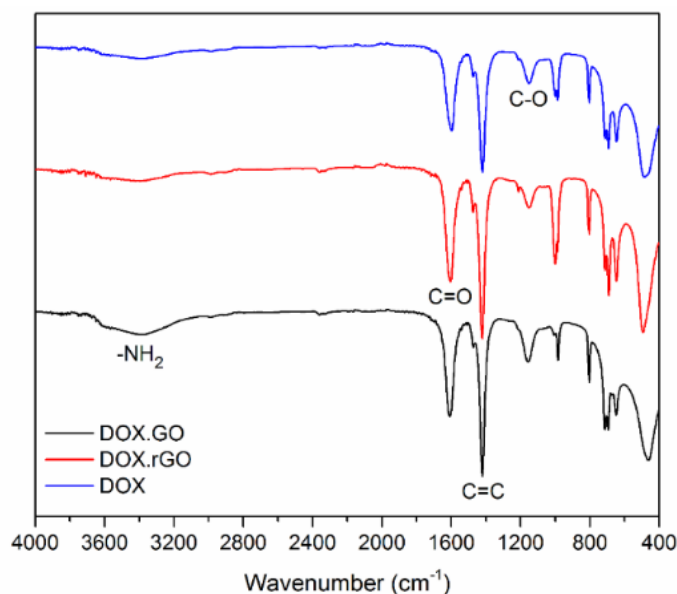
کربونیل‌دار مانند کربوکسیلیک اسید است. پیک 1567 cm^{-1} نیز مربوط به گرافن اکسید احیا نشده می‌باشد. پیک در 1200 cm^{-1} نیز برای ارتعاش کششی پیوند C-O است (۳۲ و ۳۳). (شکل ۶).

طیف FTIR نمونه‌های DOX، DOX-GO و DOX-rGO در شکل ۷ مشاهده می‌شود. پیک‌های شاخص در طیف FTIR نمونه DOX-rGO شامل پیک‌های مربوط به $C=O$ (1604 cm^{-1})، $C=C$ آروماتیک (1420 cm^{-1}) و $-NH_2$ (3420 cm^{-1}) بودند (۳۴).

پیک‌های مربوط به ارتعاش‌های کششی هیدروژن‌های حلقه آروماتیک و همچنین پیوندهای $C=C$ در گرافن اکسید نیز به ترتیب در 3117 cm^{-1} و 1577 cm^{-1} ظاهر شدند. پیک پهن ظاهر شده در ناحیه $3500-2500\text{ cm}^{-1}$ نیز مربوط به ارتعاش کششی پیوندهای هیدروژنی OH موجود در سطح گرافن اکسید است. در طیف گرافن اکسید احیا شده (rGO) پیک در 2789 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی پیوندهای C-H است. پیک در 1731 cm^{-1} مربوط به پیوند $C=O$ در گروه‌های



شکل ۶- مقایسه طیف FTIR گرافن اکسید (GO)، گرافن اکسید احیا شده (RGO) در محدوده 4000 cm^{-1} تا 400 cm^{-1} و با رزولوشن 4 cm^{-1} در مد transmittance



شکل ۷- مقایسه طیف FTIR نمونه‌های DOX، DOX-GO و DOX-rGO در محدوده 4000 cm^{-1} تا 400 cm^{-1} و با رزولوشن 4 cm^{-1} در مد transmittance

XRD

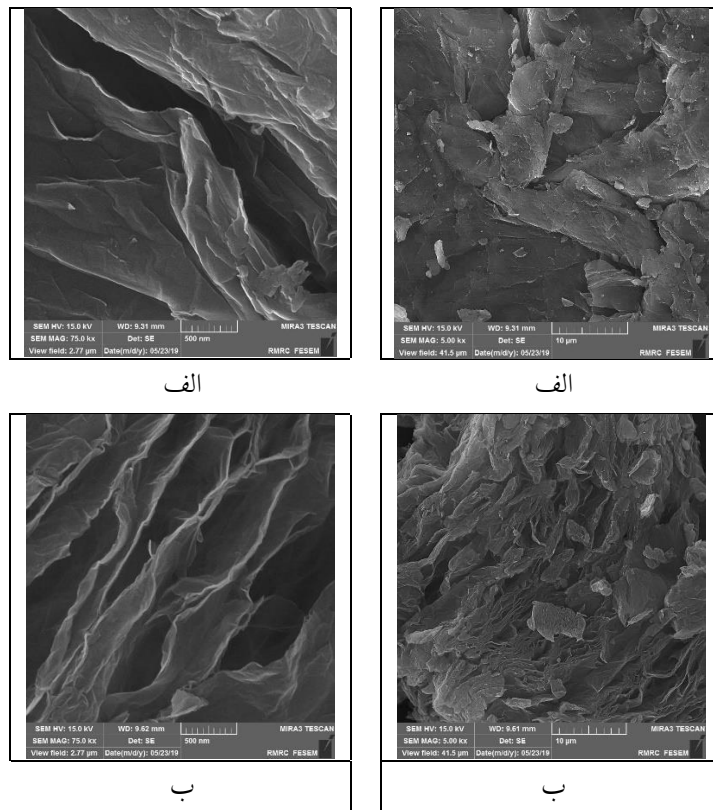
الگوی پراش اشعه ایکس (XRD) دو نمونه GO و rGO نیز در شکل ۱۰-الف نشان داده شده است. الگوی XRD دوکسوروبیسین، DOX-GO و DOX-rGO در شکل ۱۰-ب به شکل مقایسه ای آورده شده است. طبق طیف XRD، در ترکیب GO شاهد پیک قوی در حدود ۱۲ درجه هستیم که مربوط به فاصله بین لایه‌ای (d-spacing) و نشان‌دهنده ساختار لایه‌ای و وجود گروه‌های اکسیژن در سطح GO می‌باشد. در طیف XRD مربوط به rGO نیز شاهد پیک در حدود ۲۶-۲۷ درجه هستیم که نشان‌دهنده کاهش فاصله بین لایه‌ای (d-spacing) می‌باشد این تغییر به دلیل حذف گروه‌های اکسیژن و افزایش یکنواختی ساختار است.

در تصاویر XRD داروی تثبیت شده بر بسترهای مربوطه مشاهده می‌شود که الگوی پراش داروی تثبیت شده بر بستر GO پیچیده‌تر و متنوع‌تر می‌باشد که نشان‌دهنده وجود نواقص و ساختارهای مختلف در آن است حال آنکه در الگوی پراش rGO شاهد طیفی ساده‌تر و یکنواخت‌تر هستیم که نشان‌دهنده ساختار بلوری بهبود یافته و کاهش نواقص است.

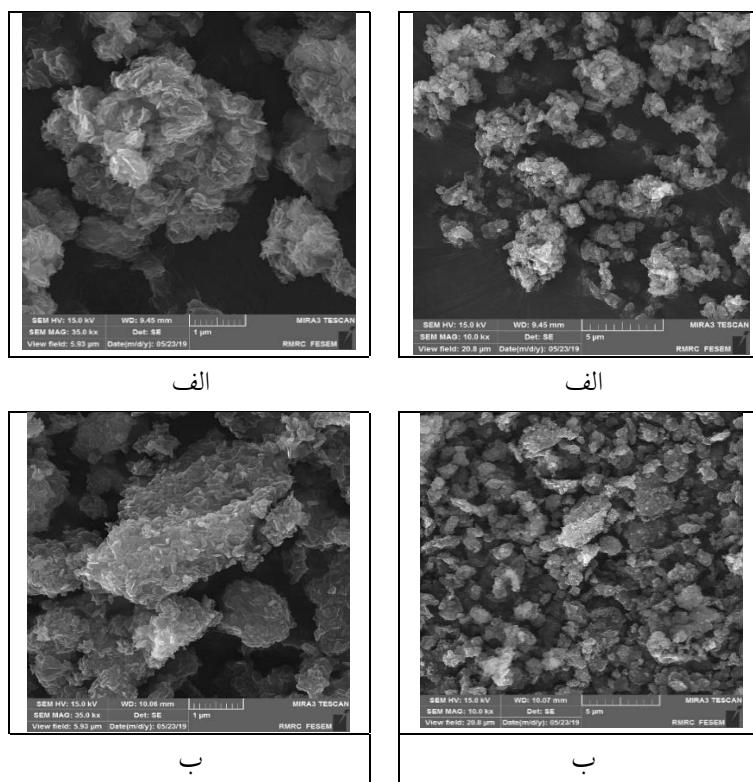
SEM

تصاویر FESEM دو نمونه GO و rGO در شکل ۸ مشاهده می‌گردد. تصاویر SEM مربوطه به نمونه‌های GO و rGO بارگذاری شده با DOX نیز در شکل ۹ قابل مشاهده هستند.

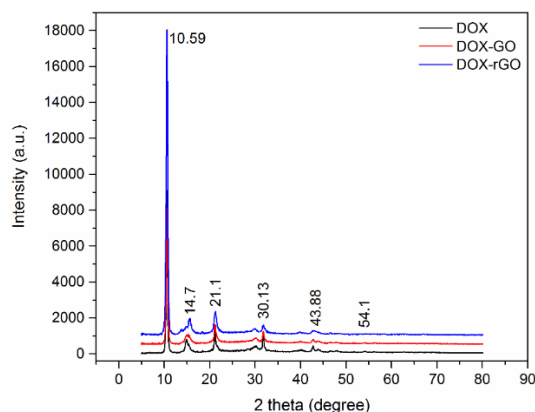
در تصاویر SEM و FESEM مربوطه، داروی تثبیت شده بر گرافن اکساید دارای ساختار تقریباً لایه‌ای و ناهمگن می‌باشد. نانوذرات GO به صورت ورقه‌های نازک و پراکنده با لبه‌های تا حدودی تیز و ناهموار دیده می‌شوند که دلیل آن هم این است که وجود گروه‌های اکسیژن (مانند هیدروکسیل و کربونیل) باعث می‌شوند که سطح GO نسبتاً زبر و ناهموار باشد. از آن سو، پس از فرآیند احیا، ساختار rGO به صورت ورقه‌های یکنواخت‌تر و صاف‌تر دیده می‌شوند. از دلایلی که rGO با لبه‌های نرم‌تر و کمتر ناهموار ظاهر می‌شود این است که کاهش گروه‌های اکسیژن در rGO منجر به افزایش یکنواختی و کاهش زبری سطح می‌شود. در مورد ویژگی تراکم و توزیع قبل از فرآیند احیا، ساختار مورد نظر دارای توزیع غیر یکنواخت و پراکنده بوده و در مورد شرایط پس از احیا دارای توزیع یکنواخت و کمتر پراکنده است. از لحاظ اندازه ذرات نیز در GO شاهد ذرات کوچکتر و متغی‌تر هستیم و در مورد rGO بزرگتر و یکنواخت‌تر است. در اینجا فرآیند احیا ممکن است منجر به ادغام ورقه‌ها شود و بزرگتر و یکنواخت‌تر شدن گردد.



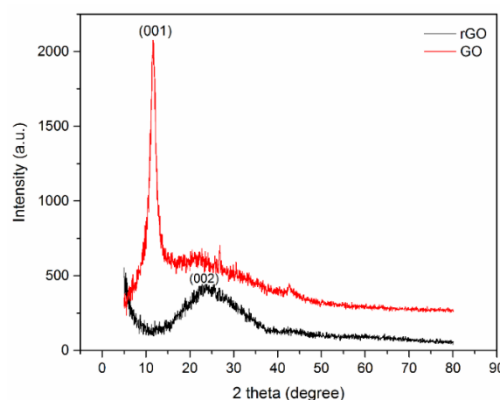
شکل ۸- تصاویر SEM (الف) گرافن اکساید و (ب) گرافن اکسید احیا شده در ولتاژ شتاب‌دهنده ۱۵ کیلوولت و با رزولوشن ۱۰ میکرومتر و ۵۰۰ نانومتر



شکل ۹- تصاویر SEM (الف) DOX-GO و (ب) DOX-rGO در ولتاژ شتاب‌دهنده ۱۵ کیلوولت و با رزولوشن ۱ و ۵ میکرومتر



(ب)



(الف)

شکل ۱۰- الف) الگوی مقایسه ای پراش اشعه ایکس (XRD) GO و rGO و (ب) دوکسوروبیسین تثبیت شده DOX-GO و DOX-rGO با ولتاژ ۴۰ کیلوولت و جریان ۳۰ میلی آمپر با دقت ۵ درجه و دامنه ۱۰ تا ۸۰ درجه

سیستم‌های رهایش دارو انواع مختلفی دارند، و یکی از جدیدترین و پیشرفته‌ترین انواع سیستم‌های رهایش دارو، سیستم‌هایی هستند که از حامل‌های نانوساختار در طراحی استفاده شده‌اند. جهت تعیین نوع اثر بخشی داروی دوکسوروبیسین از مطالعات شبیه سازی در فاز In-Silico استفاده گردید.

با توجه به تأثیرات اثبات شده داروی دوکسوروبیسین، نیاز به تحقیقات گسترده بر روی ارتقا عملکرد این دارو و تبدیل آن به نانو دارو وجود دارد (۳۵). طبق تحقیقات داوری دوکسوروبیسین با اتصال به دی‌ان‌ای و مهار ساخت نوکلئیک اسید، از طریق ایجاد اختلال در ساختار مولکولی و ایجاد ممانعت فضایی، عمل کند (۳۶).

دوکسوروبیسین پس از بارگذاری آن بر روی حامل شاهدهی دیگر بر تشکیل برهمکنش‌های مناسب بین دارو و حامل در مرحله بارگذاری دارو می‌باشد. ارتعاش کششی گروه کربونیل نیز افزایش اندکی را در پیک در ناحیه 1608 cm^{-1} داشت که این مورد نیز نشانگر برهمکنش بین گروه‌های عاملی موجود در دوکسوروبیسین با گرافن اکسید بود.

در طیف DOX-GO، جایجایی بسیار اندکی در مکان ارتعاش کششی گروه کربونیل در 1608 cm^{-1} مشاهده گردید که این جایجایی اندک به سمت عدد موج پایین تر (طول موج بالاتر) بیانگر برهمکنش DOX با گرافن اکسید در هر دو فرم و تشکیل کمپلکس‌های مربوطه است. از عواملی که باعث این شیفت می‌گردند می‌تواند حمله جفت الکترونیهای تنهای اتم‌های اکسیژن در گرافن اکساید به بنیان کربونیل‌های مولکول‌های دوکسوروبیسین باشد. وقتی یک گروه کربونیل ($\text{C}=\text{O}$) به وسیله جفت الکترون‌های تنهای یک اتم (مانند اتم اکسیژن در یک مولکول) مورد حمله قرار می‌گیرد و به شکل پیوند اتری ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$) در می‌آید، تغییراتی در ساختار و ویژگی‌های پیوندی رخ می‌دهد که می‌تواند بر موقعیت پیک‌های طیف FTIR تأثیر بگذارد. پیوند کربونیل یک پیوند دوگانه قوی است و انرژی بالایی دارد. وقتی این پیوند به پیوند اتری تبدیل می‌شود، انرژی پیوند کاهش می‌یابد زیرا پیوند اتری پیوندی تک است و معمولاً انرژی کمتری نسبت به پیوند دوگانه دارد. با کاهش انرژی پیوند، ارتعاشات مربوط به پیوند اتری در طول موج‌های بالاتر قرار می‌گیرند. بنابراین همان‌طور که مشاهده می‌شود در طیف مربوطه، پیک مربوط به گروه کربونیل به صورت خفیفی به سمت طول موج‌های بیشتر شیفت می‌کند. این موضوع نشان می‌دهد که دوکسوروبیسین به خوبی بر روی گرافن اکسید بارگذاری شده است. پیک قوی ظاهر شده در 1420 cm^{-1} که مربوط به حلقه‌های آروماتیک بود نیز تحت تأثیر برهمکنش‌های بین DOX و GO به شکل بسیار خفیف به سمت طول موج‌های بالاتر جابجا گردید که می‌تواند ناشی از کمتر شدن اثر آنیزوتروپی حلقه‌های آروماتیک به دلیل دخالت گرافن اکساید باشد. افزایش شدت پیک 1385 cm^{-1} که مربوط به گروه‌های آمینی موجود در DOX بود نیز شاهدهی دیگر بر بارگذاری موفق DOX بر روی GO بود. از عوامل افزایش شدت پیک مربوط به گروه آمینی پس از بارگذاری دارو بر روی GO و rGO می‌تواند تأثیر اتم‌های اکسیژن ترکیبات گرافنی از طریق القای فضایی بر اسکلت دوکسوروبیسین باشد (شکل ۷).

تصاویر SEM گرافن اکسید و گرافن اکسید احیا شده همخوانی خوبی با موارد مشابه گزارش شده توسط آقای لای و همکارانش داشتند و مورفولوژی ورقه‌ای یا لایه‌ای با مساحت سطح بالا در آنها کاملاً محسوس بود (۳۹).

ساختار لایه‌ای FESEM دو ترکیب GO و rGO، شاخص‌ترین ویژگی مربوطه بود که در شکل (۸) کاملاً محسوس می‌باشد. پس از بارگذاری دارو بر روی حامل، تغییر اندکی در مورفولوژی گرافن اکسید و گرافن اکسید احیا شده مشاهده شد، البته همچنان ساختار لایه‌ای آن‌ها

شبه‌سازی مولکولی روشی است که برای درک نوع برهمکنش بین مولکول مورد نظر و ماکرومولکول‌هایی مانند آنزیم‌ها استفاده می‌شود. از آنجا که هر دو روش محاسباتی و تجربی نقشی اساسی در توسعه داروها ایفا می‌کنند، داکینگ مولکولی به ابزاری جدید برای توسعه مطالعات زیست‌شناختی مولکولی تبدیل شده است. فاکتور تمایل (آفینیتی) حاکی از قدرت برهمکنش‌های لیگندهای مولکولی در جایگاه اتصال مربوطه به ماکرومولکول مورد نظر از طریق پیوندهای مختلف شیمیایی و اندر والس، هیدروژنی و یونی است. از بین ۵۰ کلاستر در نظر گرفته برای ترکیب، کلاستر ۴۰ ام، دارای بهترین حالت انرژی به میزان $-2/9$ بود. همچنین مقدار انرژی درون مولکولی، انرژی الکتروستاتیک، انرژی درونی کلی و انرژی آزاد پیچشی مربوط به آن در دمای 298.15 کلون به ترتیب $3/28 \text{ kcal/mol}$ ، $-6/18 \text{ kcal/mol}$ ، $-0/91 \text{ kcal/mol}$ ، $-4/14 \text{ kcal/mol}$ و $3/28 \text{ kcal/mol}$ بودند. پیوندهای واندروالس، هیدروژنی، هیدروژن-کربن، آلکیلی و π - آلکیلی بهترین برهمکنش را نشان دادند (۲۷).

در ترکیب مورد نظر، ساختار دو بعدی بدست آمده نشان می‌دهد که بهترین برهمکنش‌ها در نتیجه پیوندهای وان دروالس، هیدروژنی، هیدروژن-کربن، آلکیلی و پای آلکیلی می‌باشد (شکل ۳ و ۴).

ساختار هیدروفوربی اندازه‌گیری شده تمایل بیشتر اسید آمینه تریپتوفان ۳۴ (TYR34) به بخش غیرآروماتیک و آلانین ۶۴ (ALA64) و فنیل آلانین ۸۰ (PHE80) به بخش آروماتیک لیگاند مربوطه را نشان داد که دلیل این مورد می‌تواند خواص آنیزوتروپی بخش آروماتیکی لیگاند مربوطه و واکنش آن با اسیدهای آمینه با قطبیت متناسب با این بخش باشد (۲۸).

در بررسی‌های مربوطه به FTIR حضور ارتعاش کششی گروه کربونیل در 1720 cm^{-1} ، ارتعاش کششی هیدروژن‌های حلقه آروماتیک در 1517 و همچنین ارتعاش کششی پیوندهای هیدروژنی گروه هیدروکسیل در $3500-2500 \text{ cm}^{-1}$ در طیف FTIR نشان از موفقیت در تهیه گرافن اکسید و گرافن اکسید احیا شده داشت. همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌گردد پیک‌های مربوط به ارتعاش کششی هیدروژن‌های حلقه آروماتیک و همچنین پیوندهای $\text{C}=\text{C}$ در گرافن اکسید به خوبی بیانگر ساختار گرافن اکسید با خلوص بالا بودند. پس از بارگذاری دارو بر روی حامل، شاهد بروز بیشتر ارتعاش کششی هیدروژن‌های گروه آمین آلیفاتیکی نوع اول در موقعیت پیک‌های FTIR بودیم. در مورد ظهور این پیک در ناحیه 3400 که یک پیک پهن می‌باشد می‌توان گفت که پیک مربوطه یک پیک کششی و متوسط از نظر شدت می‌باشد (شبهه پیک‌های هیدروکسیلی) که این شدت و مکان قرارگیری تحت شرایط خالص و تثبیت شده در دو حالت احیا شده و غیر احیا شده اندکی متفاوت می‌باشد. بیشتر بودن شدت این پیک در حالت گرافن اکسید غیر احیا شده می‌تواند به دلیل آزادی عمل بیشتر هیدروژن‌های مربوطه در فرم غیر احیا شده نسبت به فرم احیا شده باشد. همچنین فعال تر شدن این هیدروژن‌ها در اثر برهمکنش با بستر گرافن اکسید نسبت به داروی خالص نیز می‌تواند عاملی برای بیشتر بودن شدت پیک مربوطه باشد. بنابراین افزایش شدت پیک مربوط به گروه آمینی (1385 cm^{-1}) در

نتیجه گیری

بر اساس نتایج بدست آمده از داده های دستگاهی و با بررسی خواص مختلف تحلیلی طیف های FT-IR، طیف های SEM و الگوی پراش اشعه ایکس ترکیب مورد نظر تغییر ماهیت و اثر بخشی بستر گرافنی داروی دوکسوروبیسین اثبات گردید. تغییر در نوع اثر بخشی دارو بر اثر دخالت اکسیژن های بستر گرافنی با تغییر و شیفت پیک های FTIR علی الخصوص جایجایی پیک های کربونیلی و الکنی مربوط به حلقه های آروماتیک به سمت اعداد موجی پایین تر و بروز بیشتر ارتعاش کششی هیدروژن های گروه آمین آلیفاتیک نوع اول در موقعیت پیک های FTIR به دلیل آزادی عمل بیشتر هیدروژن های مربوطه در فرم غیر احیا شده و فعال تر شدن این هیدروژن ها مشاهده گردید. همچنین تغییر در مورفولوژی طیف های SEM ترکیب مورد نظر، پس از تثبیت بر روی سطوح گرافنی از لحاظ ساختار لایه ای ویژه که حاصل از دخالت اکسیژن های گرافن در این ویژگی در هر دو فرم احیا شده و غیر احیا شده بود نشان دهنده تغییر در اثر بخشی دارو داشتند که این مورد برای فرم احیا شده یکنواخت تر بود و نشان از کاهش گروه های اکسیژن در rGO داشت. همچنین پیک قوی در موقعیت ۱۲ درجه در طیف XRD نیز که مربوط به فاصله بین لایه ای (d-spacing) بود تایید دیگری بر ساختار لایه ای نشات گرفته از اثر بخشی گروه های اکسیژن در سطح GO بر روی بخش های ساختاری داروی مربوطه داشت.

این مطالعه از جمله اولین مطالعاتی بود که در قالب تحقیقی بین رشته ای با انجام داکینگ مولکولی و ارزیابی نتایج مربوطه در تعامل بین دوکسوروبیسین و گرافن اکساید نشان دهنده پتانسیل بالای درمانی داروی تثبیت شده بر بستر گرافنی جهت درمان سرطان با شی و بینشی جدید را در مورد استفاده بالقوه از این ترکیب دارویی فراهم کند و با استفاده از نرم افزارهای شبیه سازی مولکولی برای بررسی عملکرد سامانه دارورسانی، امکان تحلیل دقیق تری از رفتار نانوذرات و دارو در شرایط مختلف را فراهم می کند که این امر می تواند به بهبود طراحی و توسعه سیستم های دارورسانی کمک کند. از مزایای این تحقیق این بود که به بررسی ترکیب خاصی از نانوذرات گرافن اکساید و داروی دوکسوروبیسین پرداخت که در تحقیقات قبلی به طور خاص مورد بررسی قرار نگرفته بود. با توجه به گزارشات موجود و حاصل از این تحقیق و اهمیت بالای زیست سازگاری حامل های دارویی، ترکیب گرافن اکساید و داروی دوکسوروبیسین می تواند به عنوان کاندیدی مناسب جهت بهبود بیشتر بیماران سرطانی و کنترل بیماری در بدن آنها استفاده گردد. در این راستا، داده های ما نشان داد که در بررسی خواص مربوطه بر روی آنزیم توپوایزومراز ۲ که از طریق مهار این آنزیم، این دارو اگر به صورت تثبیت شده مورد استفاده قرار گیرد می تواند با بهبود عملکردی خود باعث کنترل بیشتر سلول های سرطانی گردد چنانچه نوآوری در دارورسانی، کاهش عوارض جانبی و شبیه سازی و بهینه سازی

حفظ گردید که قابل مشاهده است. طبق تصاویر SEM، نمونه های GO و rGO بارگذاری شده با DOX در ظاهر تغییر کمی در مورفولوژی گرافن اکساید و rGO پس از بارگذاری نشان دادند که برخی از این تفاوت ها از این قرار بودند: در تصاویر SEM و FESEM مربوطه، گرافن اکساید دارای ساختار حدودا لایه ای و ناهمگن بود. همچنین ورقه های نازک و پراکنده با لبه های تیز و ناهموار نانوذرات GO ممکن است به دلیل وجود گروه های اکسیژن (مانند هیدروکسیل و کربونیل) باشد که باعث که باعث این سطح نسبتاً ناهموار گردیده است. پس از فرآیند احیا نیز، ساختار rGO به صورت ورقه های یکنواخت تر و صاف تر دیده شد که کاهش گروه های اکسیژن در rGO می تواند منجر به افزایش یکنواختی و کاهش زبری سطح شده باشد (شکل ۹).

الگوی پراش اشعه ایکس گرافن اکساید پیک قوی را در $2\theta = 11/6^\circ$ از خود نشان می دهد که مربوط به پراکنش از صفحه بلوری مکعبی مرکز دار (۰۰۱) بود و با نتایج گزارش توسط وانگ و همکارانش مطابقت داشت (۴۰).

پس از احیا گرافن اکساید، الگوی XRD تغییر کرده و پیک جدیدی در $2\theta = 25/4^\circ$ مشاهده گردید که مربوط به صفحه (۰۰۲) می باشد. بنابراین الگوی پیک های XRD مربوط به حامل و داروی دوکسوروبیسین تأثیرات این نشست را نشان داد (شکل ۱۰).

در الگوی پراش اشعه ایکس (XRD) دو نمونه GO و rGO در شکل ۱۰ پیک XRD ویژه گرافن اکساید که مربوط به پراکنش صفحه (۰۰۱) بود و در مقدار $2\theta = 11/6^\circ$ با فاصله بین لایه ای ۰/۸ نانومتر مشابه با مقدار گزارش شده توسط جبار و همکاران (۲۰۱۶) مشاهده می شود، پس از احیا گرافن اکساید، ناپدید شده و پیک جدیدی (۰۰۲) در $2\theta = 25/4^\circ$ مشاهده گردید که مقدار فاصله بین لایه های بلوری آن ۰/۴ نانومتر بوده و در آرایش خوبی از فاصله بین لایه ای گرافن قرار گرفته است (۴۱).

دوکسوروبیسین در مقادیر 2θ برابر با ۳۰/۱۳، ۲۱/۱، ۱۴/۷، ۱۰/۵۹، ۴۳/۸۸ و ۵۴/۱ بود که مربوط به ساختار بلورین آن می باشد. XRD دو نمونه DOX-GO و DOX-rGO نیز حاوی الگوهای هر دو ترکیب DOX و GO و بیانگر بارگذاری موفقیت آمیز دوکسوروبیسین بر روی گرافن اکساید و گرافن اکساید احیا شده بودند (۴۲). در کاری مشابه که توسط ژانگ و همکارانش صورت پذیرفته بود و در آن به بررسی بارگذاری دوکسوروبیسین بر روی گرافن اکساید و رفتار رهایش آن پرداخت بودند نیز نتایج XRD نشان داد که دوکسوروبیسین پس از بارگذاری موفقیت آمیز بر روی GO دارای الگوهای XRD مشابهی با الگوهای ذکر شده در این تحقیق در 2θ می باشد (شکل ۱۰) (۴۲). همچنین در سال ۲۰۱۹ نیز موهان و همکارانش به نتایج مشابه دست یافتند (۴۳). این تحقیقات توسط محمد زاده و همکاران نیز تایید شده است (۴۴). در سایر مقالات هم به سنتز ترکیبات چارچوب آلی فلزی که در زمینه انتقال دارو کاربرد دارد نیز پرداخته شده است (۴۵ و ۴۶).

مشارکت نویسندگان

انجام آزمایش ها: زهرا صلاح هادی؛
تحلیل داده ها و نتایج: زهرا صلاح هادی، فرهاد عظیمی فر،
نگارش نهایی: زهرا صلاح هادی، فرهاد عظیمی فر، محمد رزازی
بروجنی.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، مقاله حاضر فاقد هرگونه تعارض منافع بوده
است.

قبل از شبیه سازی و بهینه سازی را می توان از مزایای این تحقیق به
صورت یک تحقیق بین رشته ای بر روی داروی دوکسوروبیسین نسبت
به پژوهش های قبل دانست.

ملاحظات اخلاقی پیروی از اصول اخلاق پژوهش

همکاری مشارکت کنندگان در تحقیق حاضر به صورت داوطلبانه و با
رضایت آنان بوده است.

حامی مالی

نویسندگان مقاله حامی مادی و معنوی می باشند.

References

- 1-Yadav, Y. S., Vishwakarma, A. K., Yadav, R. K., et al. "Targeted Cancer Therapy." *Res. Reflect.* (2017) 1(1): 11-17.
- 2-Dietel, M., Sers, C. "Personalized medicine and development of targeted therapies: The upcoming challenge for diagnostic molecular pathology. A review." *Virchows Arch.* (2006) 448(6): 744-755.
- 3-Widakowich, C., et al. "Review: Side effects of approved molecular targeted therapies in solid cancers." *Oncologist.* (2007) 12(12): 1443-1455.
- 4-Citri, A., Yarden, Y. "EGF-ERBB signalling: Towards the systems level." *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* (2006) 7: 505-516.
- 5-Liang, T., Xing, Z., Jiang, L., et al. "Tailoring nanoparticles for targeted drug delivery: From organ to subcellular level." *Mini-Rev.* (2021) DOI: 10.1002/VIW.20200131.
- 6-Li, Y., Dong, H., Li, Y., Shi D. Graphene-based nanovehicles for photodynamic medical therapy. *Int J Nanomedicine.* (2015) 27:10:2451-9.
- 7-Siegel, R. L., et al. *Cancer statistics, 2015.* CA: A Cancer Journal for Clinicians, 65(1), 5-29.
- 8-Ma, N., Liu, J., He, W., et al. "Folic acid-grafted bovine serum albumin decorated graphene oxide: an efficient drug carrier for targeted cancer therapy." *J. Colloid Interface Sci.* (2017) 490: 598.
- 9-Liang, X., Gao, C., Cui, L., et al. " Self-Assembly of an Amphiphilic Janus Camptothecin–Floxuridine Conjugate into Liposome-Like Nanocapsules for More Efficacious Combination Chemotherapy in Cancer." *Adv. Mater.* (2017) 29: 1703135.
- 10-Liu, L., Ma, Q., Cao, J., et al. "Recent progress of graphene oxide-based multifunctional nanomaterials for cancer treatment." *Cancer Nanotechnol.* (2021) 12: 18.
- 11-Balcioglu, M., Rana, M., Yigit, M. V. "Doxorubicin loading on graphene oxide, iron oxide and gold nanoparticle hybrid." DOI: 10.1039/C3TB20992J (2013)
- 12-Sharifi Saez, A., Kermanian, M., Ramazani, A., & Sadighian, S. "Synthesis of Graphene Oxide/Iron Oxide/Au Nanocomposite for Quercetin Delivery." *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.* 32: 1541–1550. (2022).
- 13-Moghadam, N.B., Avatefi, M., Karimi, M., & Mahmoudifard, M. "Graphene family in cancer therapy: recent progress in cancer gene/drug delivery applications." *J. Ind. Environ. Biotechnol.* (2023) 14: 111-122.
- 14-Jabbar, A., Yasin, G., Khan, W. Q., et al. "Electrochemical deposition of nickel graphene composite coatings: effect of deposition temperature on its surface morphology and corrosion resistance." *RSC Adv.* (2017) 7: 31100.
- 15-Song, S., Shen, H., Wang, Y., et al. " Biomedical application of graphene: From drug delivery, tumor therapy, to theranostics" *Colloids Surf. B Biointerfaces.* (2020) 185: 110596.
- 16-Yu, W., Sisi, L., Haiyan, Y., et al.. " Progress in the functional modification of graphene/graphene oxide: a review" *RSC Adv.* (2020) 10: 15328.
- 17-Westman, E. L., Canova, M. J., Radhi, I. J., et al. "" *Chem. Biol.* (2012) 26: 1255.
- 18-Zhao, X., Wei, Z., Zhao, Z., et al. " Design and Development of Graphene Oxide



- Nanoparticle/Chitosan Hybrids Showing pH-Sensitive Surface Charge-Reversible Ability for Efficient Intracellular Doxorubicin Delivery" *ACS Appl. Mater. Interfaces*. (2018) 10: 6608.
- 19-Kanwal, U., Bukhari, N. I., Rana, N. F., et al. " " *Int. J. Nanomed.* (2018) 14(1): 1.
- 20-Hummers, W. S., & Offeman, R. E. "Preparation of Graphite Oxide." *JACS*. (1958) 80(6), 1339-1339. DOI: 10.1021/ja01539a017.
- 21-Garje Channabasappa, M. K., Jalageri, M. "Synthesis and characterization of graphene oxide by modified hummer method." (2020) DOI: 10.1063/5.0003864.
- 22-Yang, H., Villani, R. M., Wang, H., Simpson, M. J., Roberts, M. S., Tang, M., & Liang, X. The role of cellular reactive oxygen species in cancer chemotherapy. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* (2018) 37(1): 10. doi:10.1186/s13046-018-0909-x.
- 23-Sharma, H., & Mondal, S. Functionalized Graphene Oxide for Chemotherapeutic Drug Delivery and Cancer Treatment: A Promising Material in Nanomedicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17), 6280 (2020). DOI: 10.3390/ijms21176280.
- 24-Nurunnabi, M., Parvez, K., Nafiujjaman, M., Revuri, V., Khand, H. A., Feng, X., & Lee, Y. K. "Bioapplication of graphene oxide derivatives: Drug/gene delivery, imaging, polymeric modification, toxicology, therapeutics and challenges." *Theranostics* (2015) 5(3): 312-344.
- 25<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2023/cp/d3cp01073b>
- 26-Selwa, A., et al. "In silico self-assembly of nanoparticles with applications in drug delivery." In *Advances in Nanoparticles and Nanomaterials* (2017) pp. 1-20
- 27-Feng, Y. & Huang, J. "Using simulation to improve drug-delivery effectiveness." *Pharmaceutical Technology* (2020) 35(11), 1-6.
- 28-Yang, F. et al. "Nanoparticle-based drug delivery systems for the treatment of cardiovascular diseases." *Front. Cardiovasc. Med.* (2022) 9: 1062538.
- 29-Marcano, D. C., Kosynkin, D. V., Berlin, J. M., Sinitskii, A., Sun, Z., Slesarev, A & Tour, J. M.. Improved synthesis of graphene oxide. *ACS Nano*, (2010) 4(8): 4806-4814.
- 30-Sieradzka, M., et al. "Graphene Oxide: A Comparison of Reduction Methods." *Nanomaterials*, (2020) 10(7): 1244
- 31-Ashrafizadeh, M., Saebfar, H., Gholami, M. H., Hushmandi, K., Zabolian, A., et al. "Doxorubicin-loaded graphene oxide nanocomposites in cancer medicine: stimuli-responsive carriers, co-delivery and suppressing resistance." *Expert Opin. Drug Deliv.* (2022) 19(4): 355-382. doi: 10.1080/17425247.2022.2041598.
- 32-Yang, X., Zhang, X., Liu, Z., et al. "High-efficiency loading and controlled release of doxorubicin hydrochloride on graphene oxide." *J. Phys. Chem. C.* (2008) 112(45): 17554-17558.
- 33-SreeHarsha, N., Maheshwari, R., Al-Dhubiab, B., et al. "Graphene-based hybrid nanoparticle of doxorubicin for cancer chemotherapy." *Int. J. Nanomed.* (2019) 14: 7419.
- 34-Ma, W., Yang, H., Hu, Y., et al. "Fabrication of PEGylated porphyrin/reduced graphene oxide/doxorubicin nanoplatfrom for tumor

combination therapy." *Polym. Int.* (2021) 70(9): 1413-1420.

35-Maseko, R. B., & Aderibigbe, B. A. Doxorubicin-Based Hybrid Compounds as Potential Anticancer Agents: A Review. *Molecules* (2021) 26(3), 712.

36-Minotti, G., Menna, P., Salvatorelli, E., Cairo, G., & Gianni, L. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacol. Rev.* (2004) 56(2), 185-229.

37-Jabbar, A., Yasin, G., Khan, W. Q., et al. "Electrochemical deposition of nickel graphene composite coatings: Effect of deposition temperature on its surface morphology and corrosion resistance." *RSC Adv.* (2017) 7(49):31100-31109.

38-Barik, S. The uniqueness of tryptophan in biology: Properties, metabolism, interactions, and localization in proteins. *Int. J. Mol. Sci.* (2020) 21:(22), 8776.

39-Li, X., Wang, X., Zhang, L., Lee, S., & Dai, H. Chemically derived, ultrasoft graphene nanoribbon semiconductors. *Science.* (2008) 319:(5867), 1229-1232.

40-Wang, X., Ouyang, Y., Li, X., Wang, H., Guo, J., & Dai, H. Room-temperature all-semiconducting sub-10-nm graphene nanoribbon field-effect transistors. *Physical Review Letters(PRL).* (2009) 100:(20), 206803.

41. Kamath, V., Thomas, A. Chitosan nanoparticles as a promising tool in nanomedicine with particular emphasis on oncological treatment. *Cancer Cell Int.* (2021)

42-Fong, Y. T., Chen, C.-H., Chen, J.-P. Intratumoral delivery of doxorubicin on folate-conjugated graphene oxide by in-situ forming

thermo-sensitive hydrogel for breast cancer therapy. *Nanomaterials.*(۲۰۱۷) .

43-Rahdar, A., et al. Copolymer/graphene oxide nanocomposites as potential anticancer agents. *Polymer Bulletin.* (2020).