

تحميل فريت الزنك النانوي المعدل السطح بحمض الهيالورونيك بدواء الدوكسوروبيسين

يوسف الشيخ، د. أحمد حلبى، د. كنان أوتكو

قسم الكيمياء - كلية العلوم - جامعة إدلب

الملخص:

يُعد مرض السرطان أحد أهم الأمراض المنتشرة عالمياً، وهو أحد أهم أسباب الوفاة في الوقت الراهن. يوجد عدة طرق لمعالجة السرطان؛ أهمها العلاج الكيميائي، الذي يستعمل الدوكسوروبيسين **Doxorubicin** كأحد أدوية معالجة السرطان، ولكن بسبب كثير من الآثار الجانبية الخطيرة للدوكسوروبيسين، تتجه الأبحاث حالياً لمحاولة توجيه هذا الدواء بنظام استهداف دوائي، ويتألف نظام الاستهداف الدوائي هذا من ناقل نانوي، وجزيئات استهداف، إضافة إلى دواء الدوكسوروبيسين. تم في هذه الدراسة، تحميل الدوكسوروبيسين على فريت الزنك النانوي المعدل السطح بحمض الهيالورونيك **ZF@HA**، والحصول على جسيمات نانوية من **ZF@HA@Dox** بنسبة تحميل 8.95%، وكفاءة تحميل بلغت 41.31%. كما بينت هذه الدراسة أن 90% من الدوكسوروبيسين المحمل يمكن أن يتحرر في وسط الخلية السرطانية خلال أول 24 ساعة.

الكلمات المفتاحية: جسيمات نانوية، فريت الزنك، حمض الهيالورونيك، الدوكسوروبيسين، السرطان.

Loading Hyaluronic acid- Functionalized Zinc Ferrite Nanoparticles with the Drug Doxorubicin.

Yousef Alshekh, Dr. Ahmed Halabi, Dr. Kenan Utku

Faculty of Science, department of Chemistry, Idlib University

Abstract:

Cancer is considered one of the most prevalent diseases worldwide and is one of the leading causes of death today. There are several methods for treating cancer, the most prominent of which is chemotherapy, which uses Doxorubicin as one of the cancer treatment drugs. However, due to the many severe side effects of Doxorubicin, the current research is focusing on developing Targeted Drug Delivery Systems to direct this medicine more effectively. This system may consist of a nanocarrier, targeting molecules, and Doxorubicin.

In this study, Doxorubicin was loaded onto hyaluronic acid – functionalized zinc ferrite nanoparticles (**ZF@HA**), resulting in **ZF@HA@Dox** nanoparticles with a loading rate of 8.95% and a loading efficiency of **41.31%**. The study also demonstrated that **90%** of the loaded Doxorubicin was released in cancer cell medium within the first **24** hours.

Keywords: nanoparticle, Zinc ferrite, Hyaluronic Acid, Doxorubicin, Cancer

1- المقدمة

1-1- تقانة النانو Nanotechnology

شهدت مجالات التصنيع في الآونة الأخيرة كثيراً من التطورات، كان من أهمها ظهور تقانة النانو، وتظهر فيها خصائص فريدة تختلف عن تلك التي تظهر على مستوى الحجم الأكبر، فتكون الخصائص الفيزيائية والكيميائية للمواد النانوية مختلفة بشكل كبير عن المواد التقليدية بسبب تأثيرات الحجم والمساحة السطحية العالية، ما يتيح تطبيقات مبتكرة في العديد من المجالات مثل الطب، الطاقة، البيئة، والإلكترونيات (Zahedifar, 2024).

يمكن للجسيمات النانوية أن تحسن عملية توصيل الأدوية، بحيث يتم توجيهها مباشرة إلى الخلايا المستهدفة، ما يزيد من فاعلية العلاج ويقلل من الآثار الجانبية (Liu et al., 2022). كما استعملت الجسيمات النانوية في تصوير الرنين المغناطيسي (MRI) وتحليل الأورام بشكل أكثر دقة. واستعملت التقنيات النانوية أيضاً في العلاج الحراري المغناطيسي (Magnetic Hyperthermia) إذ تُسخن الجسيمات النانوية المغناطيسية داخل الجسم لعلاج الأورام. كما استعملت تقنية النانو في تطوير أجهزة إلكترونية أصغر وأكثر قوة، مثل الترانزستورات النانوية والذاكرة النانوية. وتستعمل المواد النانوية في تحسين كفاءة الخلايا الشمسية، وتطوير بطاريات وموارد طاقة أكثر كفاءة وأطول عمراً. كما يمكن استعمال تقانة النانو في معالجة المياه وتنظيف البيئة من الملوثات مثل المعادن الثقيلة والمواد العضوية (Liu et al., 2022). أي أن من أهم استخدامات تقانة النانو هي في نظام الاستهداف الدوائي.

1-2- نظام الاستهداف الدوائي Targeted Drug Delivery Systems

في النظام التقليدي لتوصيل الأدوية يتم بلع حبوب أو حقن أدوية، الأمر الذي يؤدي إلى انتشار الدواء في جميع أنحاء الجسم للوصول إلى العضو المصاب بعلاجه. أي يمكن أن تتأثر الأجزاء السليمة من الجسم بشكل سلبي بالدواء المتناول. أما في نظام توصيل الدواء الاستهدافي (TDD) فيتم توجيه الدواء مباشرة إلى الجزء المصاب مع الحفاظ على باقي الأعضاء دون تأثر (Dahiya et al., 2018). بحيث يكون الهدف الرئيسي من إعطاء الدواء

هو تقليل الجرعة من خلال استهداف الدواء بكفاءة ودقة. ولتحقيق نجاح الاستهداف الدوائي في الجسم، يفضل أن تمتلك الجسيمات النانوية المغناطيسية خصائص معينة تشمل التجانس، الاستقرار، الخصائص المغناطيسية، والتوافق الحيوي (Sulaiman et al., 2015).

يوفر توصيل الدواء إلى موقع مستهدف محدد داخل جسم الإنسان العديد من المزايا، مثل تركيز الدواء في المنطقة المستهدفة من الجسم مع تمديد فترة تحرره، إضافة إلى تقليل التفاعل بين الدواء والأنسجة الأخرى والحد من مخاطر الآثار الجانبية، ما يؤدي إلى توزيع أكثر انتظامًا للدواء وتقليل الكمية المطلوبة بسبب الحد من فقدان المنتج الدوائي في أجزاء أخرى من الجسم. تُستعمل هذه الطريقة في علاج الأورام السرطانية، إذ تميل الجزيئات ذات أحجام معينة (مثل الليبوسومات أو الجسيمات النانوية) إلى التراكم في الأنسجة المريضة أكثر من الأنسجة الطبيعية. فيتمكن جزء كبير من أنظمة توصيل الدواء المستهدف من الوصول بنجاح إلى المواقع المستهدفة لتحقيق العلاج الفعال (Pinelli et al., 2020).

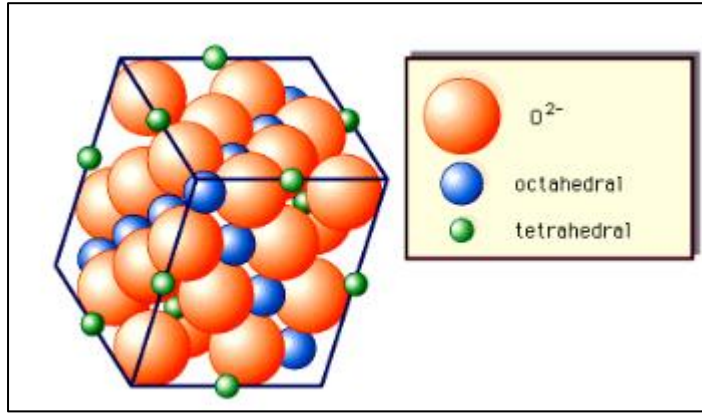
يتم عادة استهداف خلايا الورم بشكل خاص من خلال تفعيل النواقل النانوية باستخدام مجموعة متنوعة من الروابط المستهدفة، بما في ذلك الأجسام المضادة، البروتينات، والبيبتيدات، والكربوهيدرات، والجزيئات الصغيرة. يمكن لهذه الروابط أن ترتبط بشكل انتقائي بمستضدات أو مستقبلات محددة على سطح خلايا الورم، مما يؤدي إلى زيادة احتباس النواقل النانوية في أنسجة الورم وتعزيز دخولها إلى خلايا الورم (Fan et al., 2023).

يتألف نظام الاستهداف الدوائي من ثلاثة أجزاء أساسية: الجسيمات النانوية، الدواء، والجزيئات المستهدفة (Dahiya et al., 2018). سيتم في هذه الدراسة تحضير نموذج استهداف دوائي من فريت الزنك كجسيمات نانوية، المعدل السطح بحمض الهيلورونيك، كجزيئات مستهدفة، ومن ثم تحميل الدوكسوروبيسين كأحد أدوية معالجة السرطان.

1-3- فريت الزنك Zinc Ferrite

الفريت هو أحد مركبات الحديد اللاعضوية، يمكن أن يكتب بالصيغة العامة: MFe_2O_4 ، إذ M هي شاردة معدن ثنائي التكافؤ مثل Co^{2+} ، Mn^{2+} ، Ni^{2+} ، Zn^{2+} ، ويكون

الحديد ثلاثي التكافؤ. يعتبر فريت الزنك أحد أنواع الفريت التي بدأ استعمالها يتزايد مؤخراً. إن الشكل البلوري لفريت الزنك هو مكعبي من نوع السبينيل الطبيعي normal spinel، كما هو موضح في الشكل (1). إذ يتوضع عنصر الزنك الثنائي التكافؤ في مراكز رباعي الوجوه Th وعنصر الحديد الثلاثي التكافؤ في مراكز ثماني الوجوه Oh (Okatan, 2005; Perales- Oh, 2017) . Pérez & Cedeño-Mattei, 2017)



الشكل (1) بنية خلية فريت الزنك

يمكن تحضير فريت الزنك بطرق عدة، مثل طريقة الترسيب المشترك co-precipitation، التحلل الحراري thermal decomposition، الحلمة الحرارية hydrothermal، تقنية السول-جل sol-gel، الطرق فوق صوتية sonochemical، التحضير باستخدام الميكروويف microwave-assisted (Kefeni et al., 2020). تعتبر طريقة الترسيب المشترك co-precipitation، من أكثر الطرق استعمالاً، فهي تقنية بسيطة، غير مكلفة وخالية من الملوثات (Dahiya et al., 2018).

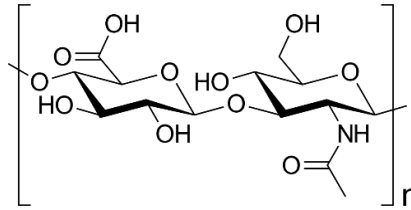
يتميز فريت الزنك بصفات مهمة عديدة؛ فهو ثابت كيميائياً، سهل التحضير (Kalaiselvan et al., 2022) منخفض الكلفة (Wang et al., 2020) متوافق حيوياً (Bellala et al., 2024) ذو قساوة ميكانيكية عالية، وصفات سوبر بارا مغناطيسية. ما يساعد في دخول فريت الزنك النانوي في كثير من التطبيقات، مثل المعالجة الحرارية الفائقة،

الحساسات البيولوجية، توصيل الأدوية، حساسات للغاز، وسائط ضوئية، تطبيقات معالجة السرطان، والتصوير بالرنين المغناطيسي (MRI)، وغيرها من التطبيقات (Husain et al., 2021).

1-4- حمض الهيالورونيك Hyaluronic Acid

إن حمض الهيالورونيك HA هو متعدد سكريد خطي عالي الوزن الجزيئي يتكون من وحدتين من السكر مرتبطتين بالتناوب، هما حمض D-الجلوكورونيك و N-أسيتيل جلوكوزامين (Huang & Huang, 2018) تم عزله لأول مرة من عين البقر في عام 1934. (Ashrafizadeh et al., 2021).

يتميز حمض الهيالورونيك بأنه ذو توافق حيوي وقابل للتحلل الحيوي (Mao et al., 2019)، ذواب في الماء (Ruzhylo & Sorokin, 2023)، إذ يمكنه الارتباط بجزيئات الماء عبر روابط هيدروجينية. يتراوح الوزن الجزيئي لـ HA من 5 إلى 20,000 حسب طول السلسلة (Ashrafizadeh et al., 2021). يبين الشكل (2) صيغة حمض الهيالورونيك.



الشكل (2) صيغة حمض الهيالورونيك (Dovedytis et al., 2020)

يُعد حمض الهيالورونيك ذو شحنة سالبة، لذلك يمكنه الارتباط بمستقبلات سطح الخلية مثل CD44 (مستقبل حمض الهيالورونيك) (Mao et al., 2019). يتم تعديل سطح الجسيمات النانوية بـ HA لتحسين خصائص الاستهداف وقابلية الذوبان في الماء (Wang et al., 2020)، وإضافة ميزة تحرر الدواء بشكل متحكم به (Dovedytis et al., 2020; Majd et al., 2023). إذ يكون عدد مستقبلات حمض الهيالورونيك في الخلايا السليمة

كالخلايا المكونة للدم والخلايا العصبية قليل، بينما في الخلايا السرطانية عدد هذه المستقبلات كبير (Huang & Huang, 2018).

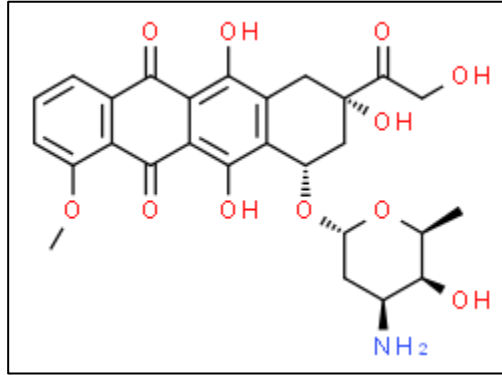
عند دمج حمض الهيالورونيك مع دواء تقليدي مضاد للسرطان، يمكن تقليل الجرعة العلاجية المطلوبة مع تقليل السمية للخلايا السليمة. استعمل مؤخراً مزيج من دواء الدوكسوروبيسين (Dox) وحمض الهيالورونيك كعلاج (Pan et al., 2021a)، حيث يعمل حمض الهيالورونيك كحصان طروادة فيعزز امتصاص الخلية للدواء المرتبط به (Malfanti et al., 2022).

حتى العام 2023، كان يوجد ما لا يقل عن 15 علاجاً نانويًا للسرطان على مستوى العالم قيد الاعتماد، ويتم تقييم أكثر من 80 علاجاً نانويًا جديدًا للسرطان في أكثر من 200 تجربة سريرية. ومع ذلك، لم يحصل أي علاج نانوي موجه للسرطان على موافقة تنظيمية (Fan et al., 2023).

1-5- الدوكسوروبيسين Doxorubicin

يعد الدوكسوروبيسين مضاد حيوي من نوع عائلة الأنثراسيكليين، يستعمل على نطاق واسع في علاج أمراض الدم المختلفة والأورام الصلبة. عُزل الدوكسوروبيسين من بكتيريا *Streptomyces peucetius*. يمتلك الدوكسوروبيسين سكرًا أمينيًا وأربع حلقات من الأنتراكينون كما يبين الشكل (3). تشمل آليات الدوكسوروبيسين الرئيسية المضادة للسرطان قمع نشاط التوبوزوميراز II (Topoisomerase II) والإقحام مع الحمض النووي وبالتالي منع تكاثر الخلايا وتعزيز توليد الجذور الحرة (Ashrafizadeh et al., 2021).

أي أن الدوكسوروبيسين يؤثر على الخلايا التي تنمو وتتقسم بسرعة، ويمكن أن يؤثر عليها خلال مراحل عدة من دورة الخلية فيعمل الدوكسوروبيسين عن طريق التداخل بين أزواج قواعد الحمض النووي (DNA)، ما يشبط تخليق الحمض النووي الريبسي (RNA) ويرتبط أيضًا بأنزيم بوليميراز الحمض النووي الريبسي، ما يؤدي في النهاية إلى موت الخلية (Simon Vallières, 2016).



الشكل (3) صيغة الدوكسوروبيسين (Feng et al., 2024)

يستعمل الدوكسوروبيسين Doxorubicin الذي يعرف أيضاً بـ: أدرياميسين Adriamycin، مع أدوية أخرى لعلاج العديد من أنواع الإصابة بالسرطان، مثل سرطان الثدي، والرئة، والمبيض، والمثانة وسرطان الدم، وهو يُعطى عن طريق الوريد (Pan et al., 2021b). بشكل أكثر شيوعاً مقارنةً مع الداونوروبيسين، والإبيروبيسين، والإيداروبيسين، والميتوكسانترون، والفالروبيسين (Ashrafizadeh et al., 2021).

1-6- الآثار الجانبية للدوكسوروبيسين Side Effects of Doxorubicin

إن للدوكسوروبيسين العديد من الآثار الجانبية التي تحد من استعماله كمضاد للأورام (Cardoso et al., 2021). من أهم الآثار الجانبية السلبية للدوكسوروبيسين هي فشل القلب الاحتقاني، أو القصور القلبي. إضافة إلى أنه ذو سمية خلوية شديدة، ويمكن أن يسبب عدوى حادة في الأمعاء تهدد الحياة (Simon Vallières, 2016). يمكن أن يسبب الدوكسوروبيسين الوهن العام، الغثيان، القيء، تصبغ الجلد والأظافر، والحساسية للضوء (Kamińska & Cudnoch-Jędrzejewska, 2023). لذلك يعد الدوكسوروبيسين دواء غير استهدافي (Majd et al., 2023).

تهدف الدراسة الحالية إلى إضافة ميزة الانتقائية لدواء الدوكسوروبيسين هذا؛ وذلك من خلال تحميله على ناقل لاعضوي مزود بجزيئات تستقبلها الخلايا السرطانية أكثر من الخلايا السليمة، ما يؤدي إلى تقليل الآثار الجانبية لهذا الدواء.

2- المواد وطرائق العمل Method and Materials

2-1- المواد المستخدمة Materials

جميع المواد الكيميائية التي استعملت في هذا العمل كانت كما هي، دون أي تنقية إضافية. كلوريد الزنك ZnCl_2 , ($\text{Mw}=136.28\text{g/mol}$, P:98\% , from Scharlab S.A. كوريد الحديد، La Jota 86 08016-Barcelona, Spain). FeCl_3 , ($\text{Mw}=162.2\text{g/mol}$, حمض الهيالورونيك، P:98\% , Emir Kimya Ankara, Turkey). Hyaluronic Acid، ماءات الصوديوم (Mw: 403.31g/mol , Aromel Kimya Medikal AŞ, Istanbul، NaOH , ($\text{Mw}=40.00\text{g/mol}$, P:99\% Isolab Laborgeräte gmbh .Turkey) حمض كلور الماء (HCl , ($\text{M}_w=36.46\text{g/mol}$, .Bahnhofstraße Germany) H_2O , (HPLC ماء مقطر fumming: >37\% honeywell fluka, Austria) $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, (96%, إيتانول، Gradient, 15M ohm.cm Chemsolute TH Geyer). مستحضر الدوكسوروبيسين .Naturel Medikal İlaç San.Tic.Ltd.Şti) (DOXORUBICIN KOCAK Farma – Turkey, P.N. 19932316).

2-2- تحضير فريت الزنك النانوي المعدل السطح بحمض الهيالورونيك Hyaluronic

Acid -Zinc Ferrite Preparation ZF@HA

يحضر فريت الزنك النانوي المعدل السطح بحمض الهيالورونيك ZF@HA حسب (الشيخ، ي، وآخرون، 2025)، يُوضع 4.14g أو (0.5M) من FeCl_3 و 1.74g أو (0.25M) من ZnCl_2 في حوجلة ثلاثية الفتحة مزودة بمبرد عكوس. يُضاف لها 50ml من الماء، يُحرك في جو خامل من غاز الأزوت لمدة 2.5 ساعة عند درجة حرارة 85-90°C. خلال أول 30 دقيقة، يضاف 0.85ml من HCl المركز. يُنقط المزيج ببطء في حوجلة ثلاثية الفتحة تحتوي على 250ml من NaOH (1.5M) في جو خامل أيضًا من غاز الأزوت وباستعمال مبرد عكوس عند درجة الحرارة عند 70°C لمدة ساعة واحدة. يتم تُفصل جسيمات ZFNPs الناتجة باستعمال مغناطيس قوي. يُغسل ZFNPs الناتج بالماء

المقطر والإيتانول عدة مرات، ثم التجفيف عند درجة حرارة 70°C طوال الليل. يُطحن بلطف للمجانسة.

يوضع 50mg من ZFNPs المحضر في دورق حجمي سعة 50ml، يضاف لها 25ml من محلول حمض الهيالورونيك بتركيز 3.5mg/ml، المضبوط الوسط عند $\text{pH}=3.5$ بواسطة HCl (3N). يُرج بواسطة رجاج ميكانيكي (Orbital Shakers (IKA labortechnik Staufen janke & kunkel GmbH & Co. KG), Germany.) لمدة 4 ساعات عند الدرجة 70°C ، عند سرعة رج ثابتة (700 رجة/دقيقة). تُفصل بعدها جسيمات ZF@HA الناتجة باستعمال مغناطيس قوي، وتُغسل بالماء المقطر والإيتانول عدة مرات، ثم التجفيف عند درجة حرارة 70°C طوال الليل.

2-3- تحميل الدوكسوروبيسين على فريت الزنك النانوي المعدل السطح بحمض

الهيالورونيك Loading Doxorubicin on Functionalized zinc Ferrite

يُوضع 50 mg من فريت الزنك المعدل السطح بحمض الهيالورونيك ZF@HA في دورق حجمي سعة 50ml، (Mushtaq et al., 2017). يُضاف له 25 ml من محلول Dox بتركيز: (Danmaigoro et al., Dox (0.0125, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6mg/ml) 2017). يُرج المزيج بواسطة الرجاج الميكانيكي عند درجة حرارة الغرفة لعدة أزمنة.

خلال التحميل، يؤخذ كمية محددة من رشاحة الـ Dox وتمدد بالماء المقطر للحصول على 10 ml للحصول على تركيز 0.005 mg/ml، وتقاس الامتصاصية بجهاز (UV-Vis spectrophotometer – HACH - DR5000) عند طول الموجة 481nm (Bellala et al., 2024).

يُفصل فريت الزنك النانوي المعدل السطح المحمل بالدوكسوروبيسين ZF@HA@Dox الناتج بالحقل المغناطيسي، يُغسل مرات عدة بالماء المقطر ثم بالإيتانول، ويُجفف عند الدرجة 40°C لمدة 12 hours.

2-4- دراسة تحرر الدوكسوروبيسين من فريت الزنك المعدل السطح بحمض الهيالورونيك

المحمل بالدوكسوروبيسين ZF@HA@Dox

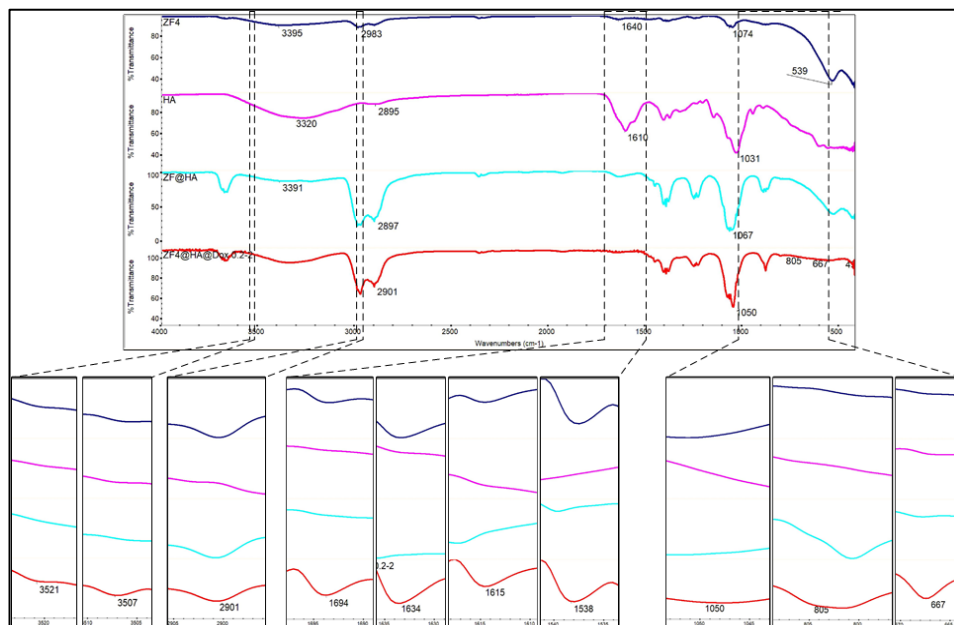
تُوضع كمية 15 mg من فريت الزنك المعدل السطح بحمض الهيالورونيك المحمل بالدوكسوروبيسين ZF@HA@Dox (ذي نسبة تحميل 4.56%) في دورق حجمي سعة 100ml، (Kalaiselvan et al., 2022)، يُضاف لها 50ml من وسط التحرر. إذ استعمل وسطين للتحرر؛ الأول حمضي PBS, pH=4.0، والثاني قلوي PBS, pH=7.4، (Mushtaq et al., 2017)، إضافة لدراسة التحرر في وسط مائي كعينة شاهدة. يُرج كل دورق في الرجاج الميكانيكي عند الـ 700 رجة في الدقيقة عند درجة حرارة الغرفة، لعدة أزمنة، تقاس خلالها امتصاصية رشاحة كل دورق عند طول الموجة 481nm (Bellala et al., 2024).

3- النتائج:

3-1- نتائج مطيافية الأشعة تحت الحمراء. توصيف فريت الزنك المعدل السطح بحمض

الهيالورونيك المحمل بالدوكسوروبيسين Result of IR

يبين الشكل (4) طيف الـ IR لفريت الزنك المعدل السطح بحمض الهيالورونيك والمحمل بالدوكسوروبيسين ZF@HA@Dox. إضافة إلى طيف فريت الزنك ZF وحمض الهيالورونيك HA وفريت الزنك المعدل السطح بحمض الهيالورونيك ZF@HA. يتبين من الطيف وجود قمة انحناء الرابطة المزدوجة في الحلقة العطرية في الدوكسوروبيسين C=C عند 667cm^{-1} ، وقمة انحناء الرابطة C-H عند 805cm^{-1} . أما القمة المميزة للدوكسوروبيسين فهي قمة الرابطة C-O-C عند 1050cm^{-1} والتي يؤكد وجودها على نجاح تحميل الـ Dox على ZF@HA. أما قمة امتطاط الرابطة المزدوجة في الحلقة العطرية في C=C فقد ظهرت عند 1538cm^{-1} ، و 1615cm^{-1} ، أما قمة امتطاط الرابطة C=O فهي عند 1694cm^{-1} ، وقمة امتطاط الرابطة C-H فهي عند 2901cm^{-1} ، كما أن قمة امتطاط الرابطة O-H كانت عند 3521cm^{-1} .



الشكل (4) طيف IR لكل من ZF، HA، ZF@HA، ZF@HA@Dox

تقابل القمم السابقة القيم المرجعية المبينة في الجدول (Bansal et al., 2021) :

الجدول (1): الأعداد الموجية للمجموعات الوظيفية للدوكسوروبيسين

Wave number (cm ⁻¹)	Functional group
3331	N-H Stretch
3525	O-H Stretch
2935, 2897	C-H Stretch
1729	C=O Stretch
1617, 1582, 1414	C=C in ring Stretch
1115, 1073	C-O-C Stretch
805, 688	C-H Bend, C=C ring bend

أي أنه عملية تحميل الـ Dox على سطح حبيبات ZF@HA تمت بنجاح، ودون أن يؤثر ذلك على جزيئات حمض الهالورونيك التي بها تم تعديل سطح فريت الزنك. حيث ترتبط Dox مع ZF@HA بروابط فيزيائية وروابط هيدروجينية (Kamińska & Cudnoch)

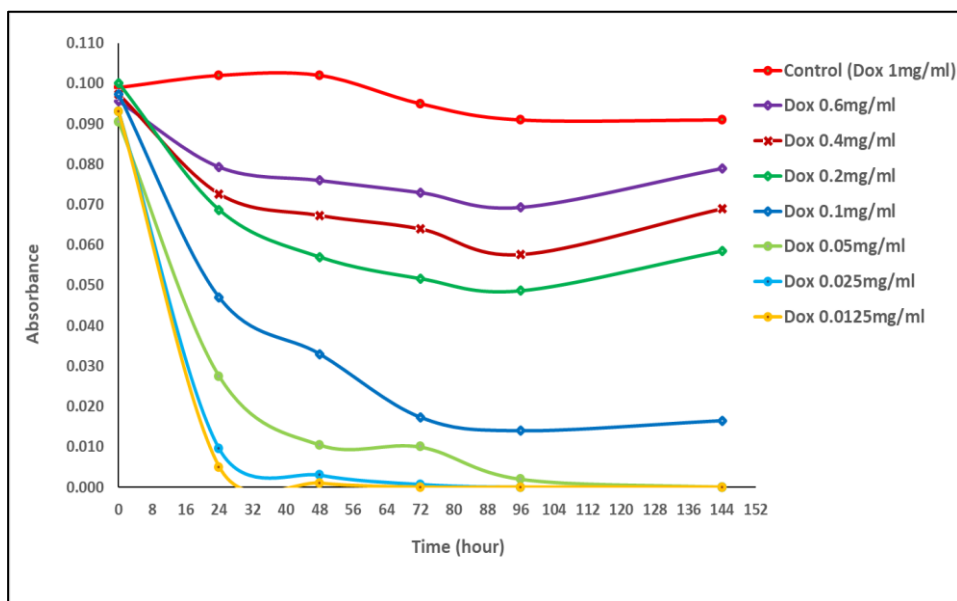
(Jędrzejewska, 2023)، وذلك من خلال ارتباط $-NH_2$, $-OH$, $C-O-C$, $-O$ من Dox مع $-OH$, $-COOH$, $-NH$ من ZF@HA (Ramnandan et al., 2021).

3-2- نتائج تحميل الدوكسوروبيسين على فريت الزنك معدل السطح بحمض

الهيالورونيك ZF@HA@Dox Result of Preparation

يبين الشكل (5) العلاقة بين تغير امتصاصية رشاحة محلول الـ Dox المحضرة بتركيز 0.005mg/ml ، بدلالة تغير زمن التحميل. يتبين من المخطط أن امتصاصية Dox تتناقص كلما زاد زمن التحميل؛ إذ يتم ادمصاص الـ Dox الموجود في المحلول على سطح ZF@HA، وبالتالي تتناقص امتصاصية المحلول نتيجة تناقص تركيز الـ Dox في المحلول، كما أظهرت النتائج أن تناقص الامتصاصية خلال زمن التحميل كان واضحاً بمجال التراكيز المنخفضة لمحلول Dox ($0.0125, 0.025\text{mg/ml}$) لكن لم يظهر التناقص بشكل واضح في مجال التراكيز المرتفعة لمحلول الـ Dox ($0.4, 0.6\text{mg/ml}$)، وهذا يُعزى إلى إشباع المراكز الفعالة على سطح ZF@HA بجزيئات Dox في حين بقيت غالبية جزيئات Dox في الرشاحة، لذلك كان تغير الامتصاصية طفيفاً.

كما يظهر المخطط أن استمرار الرج لأكثر من 96 ساعة (زمن التحميل) لم يؤدي إلى تناقص إضافي في امتصاصية الرشاحة، وبالتالي يتوقف تحميل الـ Dox على سطح ZF@HA عملياً. بل على العكس أدى استمرار الرج إلى ازدياد الامتصاصية وخصوصاً في التراكيز المرتفعة لـ Dox. ويمكن تفسير ذلك بأن طبيعة الارتباط بين Dox و ZF@HA هو ارتباط فيزيائي يخضع لتوازن بين كمية الـ Dox المحملة وتركيزها في المحلول. لذلك وبعد وصول كمية Dox المحملة لحد معين بدأ جزء من كمية Dox المحملة على ZF بالتححرر من ZF@HA@Dox والعودة إلى الرشاحة.

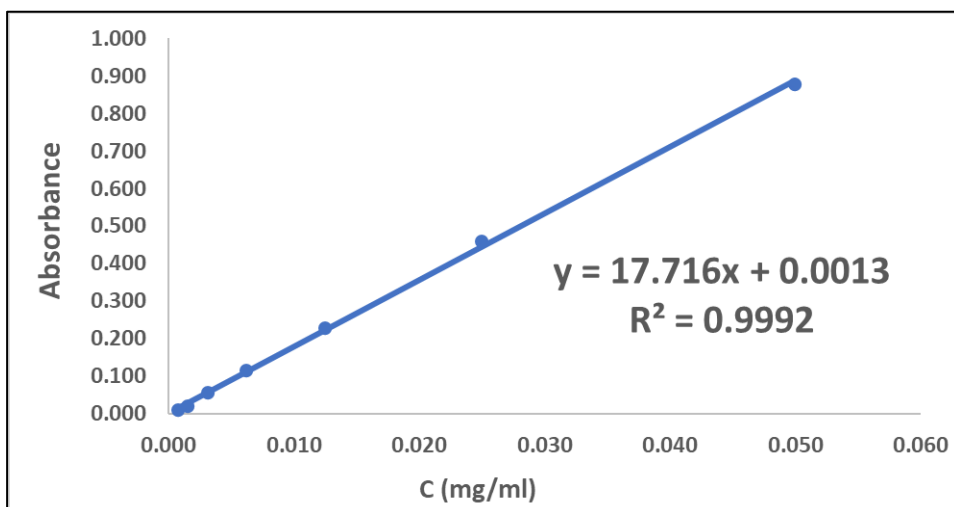


الشكل (5) تغير تركيز الدوكسوروبيسين في الرشاحة خلال زمن التحميل على ZF@HA

3-3- حساب كفاءة التحميل (EE%) ونسبة التحميل (LA%)

إن كفاءة التحميل (Encapsulation Efficiency) EE% هي النسبة المئوية المحملة من الـ Dox على ZF@HA بالنسبة لكمية الـ Dox المضافة. بينما نسبة التحميل (Drug Loading Amounts) LA% هي النسبة المئوية لكمية الـ Dox المحملة على فريت الزنك المعدل السطح بالنسبة لفريت الزنك، (Zare et al., 2018):

لحساب كفاءة التحميل استنتجت معادلة المستقيم الخطي لامتناسية الـ Dox مع التركيز، المبينة في الشكل (6).



الشكل (6) علاقة امتصاصية الدوكسوروبيسين بالتركيز

ومنها تم حساب كمية الـ Dox المتبقية في الرشاحة بدلالة أزمنة التحميل، كما يبين الجدول (2). ومنه حُسبت كمية الـ Dox المحملة عند كل زمن (وهي الفرق بين كمية Dox الابتدائية والكمية المتبقية في الرشاحة عند كل زمن) والمبينة في الجدول (3):

الجدول (2): كمية الدوكسوروبيسين المتبقية في الرشاحة عند أزمنة التحميل (n=3)

كمية الـ Dox بالـ mg المتبقية في الرشاحة عند أزمنة التحميل (ساعة)						الحجم المأخوذ من الرشاحة بعد التحميل (ml) لتحضير محلول حجمه 10ml وتركيزه 0.005mg/ml	تركيز محلول الـ Dox المعد للتحميل على ZF@HA (mg/ml)
144	96	72	48	24	0		
0.000	0.000	0.000	0.001	0.013	0.323	4	0.0125
0.000	0.000	0.000	0.012	0.058	0.646	2	0.025
0.000	0.010	0.123	0.130	0.369	1.258	1	0.05
0.429	0.358	0.452	0.894	1.289	2.708	0.5	0.1
3.226	2.671	2.841	3.141	3.799	5.567	0.25	0.2
7.636	6.358	7.072	7.448	8.050	10.832	0.125	0.4
13.199	11.557	12.180	12.690	13.256	16.031	0.083	0.6

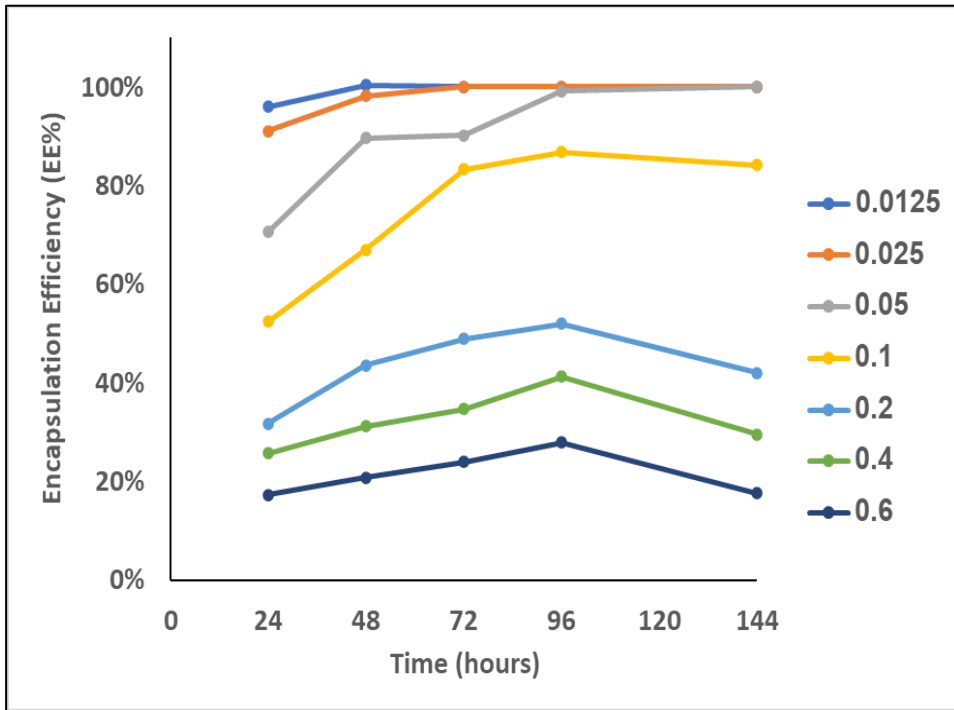
الجدول (3): كمية الـ Dox المُحملة عند أزمنة التحميل

كمية الـ Dox بالـ mg المُحملة عند أزمنة التحميل (ساعة)						الحجم المأخوذ من الرشاحة بعد التحميل (ml) لتحضير محلول حجمه 10ml وتركيزه 0.005mg/ml	تركيز محلول الـ Dox المعد للتحميل على ZF@H A (mg/ml)
144	96	72	48	24	0		
0.323	0.323	0.323	0.322	0.310	0	4	0.0125
0.646	0.646	0.646	0.635	0.589	0	2	0.025
1.258	1.248	1.135	1.128	0.888	0	1	0.05
2.280	2.350	2.256	1.814	1.419	0	0.5	0.1
2.341	2.895	2.726	2.425	1.767	0	0.25	0.2
3.196	4.474	3.760	3.384	2.782	0	0.125	0.4
2.831	4.473	3.851	3.341	2.775	0	0.083	0.6

تُحسب كفاءة تحميل الـ Dox من العلاقة:

$$EE\% = \frac{(Total\ Dox\ added) - (Free\ Dox)}{(Total\ Dox\ added)} \times 100$$

ويبين الشكل (7) كفاءة تحميل الـ Dox لكل محلول من محاليل Dox وفق التراكيز المأخوذة بدلالة أزمنة التحميل مقدرةً بالساعة. إذ يتبين أن كفاءة التحميل تكون أعظمية عند التراكيز المنخفضة من Dox لتصل إلى 100% عند التركيز 0.0125mg/ml بعد 48 ساعة رج فقط. أما في التراكيز المرتفعة فلم تتجاوز كفاءة التحميل 28% عند التركيز 0.6mg/ml بعد 96 ساعة رج. وبازدياد زمن الرج نقصت كفاءة التحميل، وكانت الذروة عند الزمن 96 ساعة.



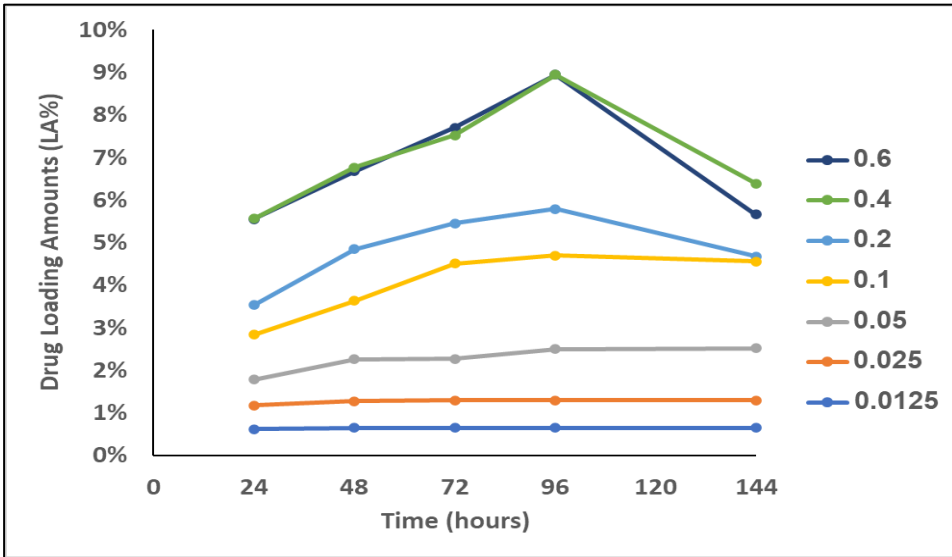
الشكل (7) كفاءة تحميل الدوكسوروبيسين على ZF@HA@Dox لكل محلول عند كل زمن

كما يتم حساب نسب تحميل الـ Dox من العلاقة:

$$LA\% = \frac{(Total\ Dox\ added) - (Free\ Dox)}{(weight\ of\ ZF@HA@Dox)} \times 100$$

ويبين الشكل (8) نسبة تحميل الـ Dox لكل محلول من محاليل Dox وفق التراكيز المأخوذة بدلالة أزمنة التحميل مقدرةً بالساعة. إذ يظهر أن نسبة تحميل الدوكسوروبيسين على فريت الزنك المعدل تزداد بازدياد تركيز محلول Dox، وتبلغ حداً الأقصى حوالي 9% عند التركيزين 0.6, 0.4 mg/ml للـ Dox. أما في التراكيز المنخفضة فكانت نسبة التحميل منخفضة جداً (حوالي 1%). كما تبين النتائج أن نسبة التحميل LA% متعلقة بزمن التحميل أيضاً، حيث تزداد LA% بزيادة زمن التحميل وتبلغ قيمة عظمى عند زمن التحميل 96 hours، ثم تتناقص عند أزمنة أكبر من ذلك.

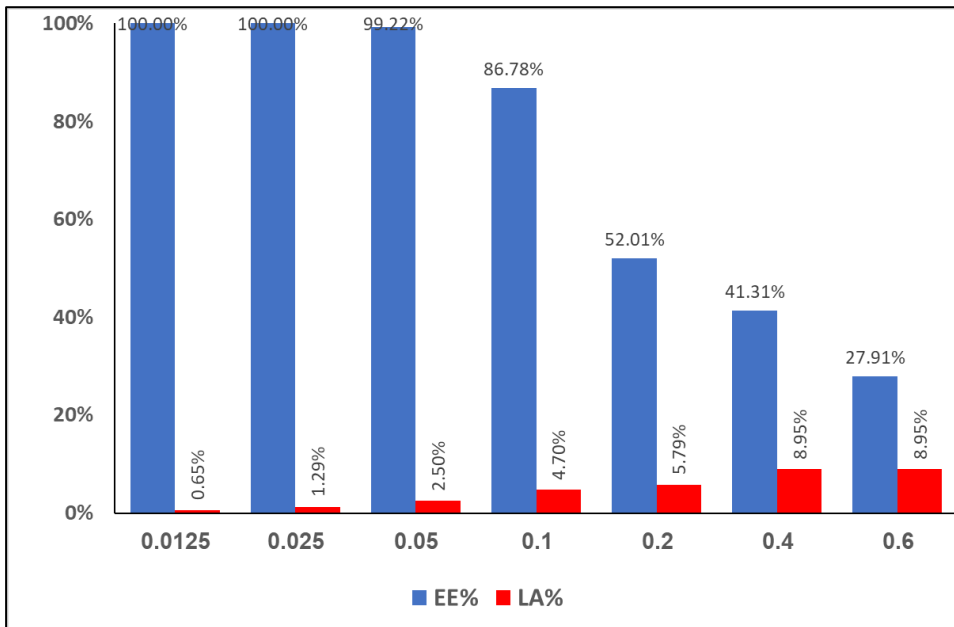
يمكن تفسير نقصان $LA\%$ عند استمرار الرج، بأن جزيئات الـ Dox في محلول التحميل تخضع إلى حالة من التوازن بين Dox المحملة على $ZF@HA$ والـ Dox الحرة في المحلول. يتأثر هذا التوازن بتركيز الـ Dox في المحلول، إذ تميل جزيئات الـ Dox بداية، عندما يكون تركيز Dox في محلول التحميل مرتفعاً، إلى الارتباط بـ $ZF@HA$. يستمر هذا الارتباط إلى حد يصبح فيه سطح $ZF@HA$ مشبعاً بجزيئات Dox ، وعندها يتغلب ميل جزيئات الـ Dox إلى التحرر من $ZF@HA@Dox$ على القوى التي تربط Dox بـ $ZF@HA$. فتبدأ عندها قيم الامتصاصية بالزيادة نتيجة ازدياد كمية الـ Dox في المحلول والتي تحررت بعد أن تم ارتباطها بـ $ZF@HA$ ، ما يؤدي إلى تناقص قيمة نسبة التحميل $LA\%$. وعليه تكون أفضل قيمة لنسبة تحميل Dox على $ZF@HA$ عند التركيز -0.4- 0.6 mg/ml عند زمن الرج 96 hours.



الشكل (8) نسبة تحميل $LA\%$ الدوكسوروبيسين على $ZF@HA$

كما يبين الشكل (9) مقارنة بين كفاءة التحميل $EE\%$ ونسبة التحميل $LA\%$ عند الزمن 96 hours وذلك بدلالة تركيز Dox في محلول التحميل. إذ يتبين أن كفاءة التحميل $EE\%$ تتناسب عكساً مع نسبة التحميل $LA\%$ ، فزيادة الكفاءة يتم على حساب نسبة

التحميل، فأفضل كفاءة تحميل تكون عند أقل تركيز من محلول التحميل **Dox**. كما أن نسبة التحميل تزداد بزيادة تركيز محلول **Dox** المستعمل، وأفضل نسبة تحميل تكون عند التركيز المرتفع.



الشكل (9) العلاقة بين كفاءة التحميل EE% ونسبة التحميل LA% عند زمن تحميل 96 ساعة

3-4- نتائج تحرير الدوكسوروبيسين من ZF@HA@Dox Result of Releasing Dox from ZF@HA@Dox

يبين الجدول (4) نتائج امتصاصية رشاحة أوساط التحرير المختلفة، خلال عدة أزمنة. من علاقة التركيز بالامتصاصية، تم حساب كميات الدوكسوروبيسين المتبقية في الرشاحة خلال أزمنة التحميل، كما هو موضح في الجدول (5) الجدول (5).

الجدول (4): امتصاصية الـ Dox في رشاحة وسط التحرر عند أزمنة متعددة

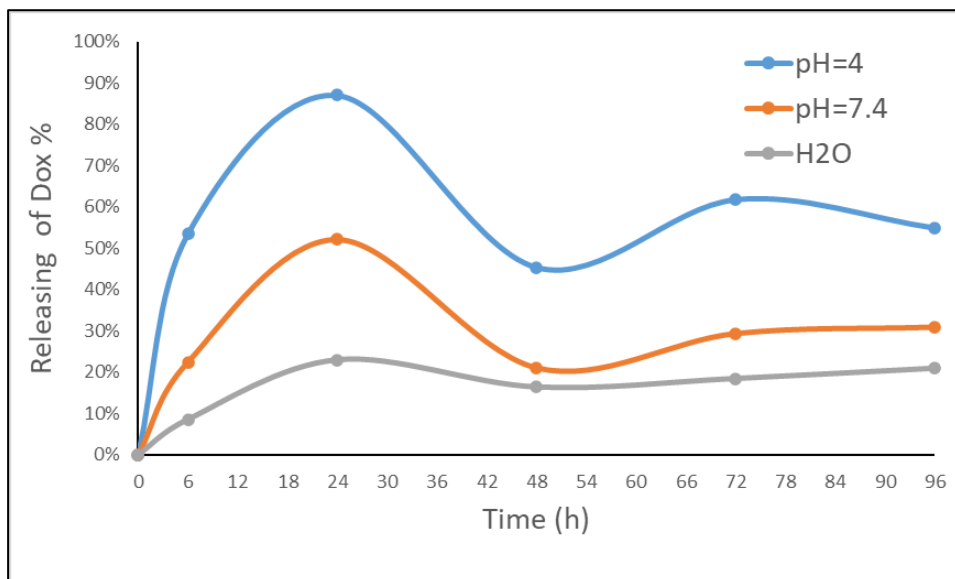
امتصاصية رشاحة وسط التحرر عند عدة أزمنة (hour)						N	pH وسط التحرر
96	72	48	24	6	0		
0.101	0.056	0.034	0.167	0.034	0	1	7.4
0.069	0.087	0.080	0.152	0.061	0	2	
0.100	0.087	0.025	0.094	0.076	0	3	
0.035	0.060	0.070	0.098	0.052	0	4	
0.076	0.073	0.052	0.128	0.056	0	المتوسط	
0.201	0.147	0.106	0.198	0.100	0	1	4
0.127	0.164	0.120	0.186	0.170	0	2	
0.134	0.147	0.109	0.251	0.128	0	3	
0.076	0.147	0.110	0.215	0.127	0	4	
0.135	0.151	0.111	0.213	0.131	0	المتوسط	
0.052	0.046	0.041	0.057	0.022	0	7 (شاهدة في الماء)	

الجدول (5): كمية Dox المتحررة في 50ml خلال أزمنة التحرر

كمية الـ Dox (mg) المتحررة خلال زمن التحرر (ساعة)						pH وسط التحرر
96	72	48	24	6	0	
0.2114	0.2008	0.1437	0.3566	0.1535	0.0000	7.4
0.3756	0.4229	0.3101	0.5956	0.3665	0.0000	4
0.1430	0.1261	0.1120	0.1571	0.0584	0.0000	7 (شاهدة في الماء)

يبين الشكل (10) تحرر الدوكسوروبيسين في الوسطين الحمضي والقلوي وفي الماء المقطر (كعينة شاهدة) مع الزمن. إذ يتضح أن تحرر Dox من ZF@HA@Dox في الوسط الحمضي أكثر من الوسط القلوي والمائي. وأن أكثر من 50% من Dox يتحرر في الوسط الحمضي خلال أول 6 ساعات فقط. وخلال 24 ساعة يتحرر تقريباً 90% من Dox.

أما في الوسط القلوي فيمانع Dox التحرر، ولا يتحرر منه إلا 20% في الساعات الست الأولى. أما في الـ 24 ساعة الأولى فلم يتحرر من الـ Dox أكثر من 50%. كما حافظ ZF@HA@Dox على ارتباطه في الوسط المائي، ولم يتحرر منه الـ Dox إلا الشيء اليسير (لم يتجاوز الـ 20% بعد 96 ساعة رج) وهذا يدل على قوة الارتباط وجودة التحميل.



الشكل (10) نسبة تحرر الـ Dox خلال الزمن في الوسطين الحمضي والقلوي

4. المناقشة Discussion

مما سبق يمكن أن نستنتج إلى أنه تم بنجاح تحميل الدوكسوروبيسين على فريت الزنك النانوي المعدل السطح بحمض الهيالورونيك ZF@HA. وقد أكدت طيوف الـ IR لـ ZF@HA@Dox وجود الزمر الوظيفية المميزة للدوكسوروبيسين على فريت الزنك، إضافة للقمم المعبرة عن المجموعات الوظيفية لحمض الهيالورونيك. كما تم بنجاح تحرير الدوكسوروبيسين من فريت الزنك النانوي المعدل السطح بحمض الهيالورونيك المحمل بالدوكسوروبيسين ZF@HA@Dox. وقد كان التحرر في الوسط الحمضي أكثر منه في الوسط القلوي.

بلغت نسبة تحميل الدوكسوروبيسين على فريت الزنك المعدل بحمض الهيالورونيك $LA=8.95\%$ وكفاءة تحميل وصلت إلى $EE=41.31\%$. كما بلغت نسبة تحرر الدوكسوروبيسين من فريت الزنك المعدل بحمض الهيالورونيك حوالي 60% خلال أول 6 ساعات، ووصلت إلى حوالي 90% خلال الـ 24 ساعة الأولى وذلك في الوسط الحمضي. تُعد نسبة التحميل هذه التي نتجت جيدة مقارنة مع الدراسات السابقة، إذ بلغت نسبة تحميل الدوكسوروبيسين على حمض الهيالورونيك (MW, 80 kDa) النسبة $LA=9.2\%$ وكفاءة التحميل $EE=91.3\%$ ، تحرر منها 59% بعد 24 ساعة (Tian et al., 2019). إن انخفاض كفاءة التحميل (التي تم الوصول إليها $EE=41.31\%$) مقارنة مع نتيجة Tian كان بسبب عدم استعمال أية محلات عضوية أو عوامل ربط في عملية التحميل، والاكتفاء بالروابط الهيدروجينية المتشكلة بين المجموعات الوظيفية من HA مع المجموعات الوظيفية من Dox.

إن ارتفاع نسبة تحرر الدوكسوروبيسين إلى النسبة 90% ، المرتفعة نوعاً ما، كان نتيجة عدم استعمال عوامل ربط أثناء تحميل الدوكسوروبيسين. إذ بلغت نسبة تحرر الدوكسوروبيسين من كرات ميكروية من فريت الزنك المعدل بالحمض الأميني النسبة 80% ذي كفاءة التحميل $EE=78.4\%$ (Bellala et al., 2024). بينما تحرر 55% من الـ Dox من فريت الكوبالت والمغنيزيوم بعد حوالي 48 ساعة (Pacheco et al., 2023). وتحرر 90% من الـ Dox من فريت الكوبلت المغلف بحمض الفوليك خلال أول 6 ساعات (Dey et al., 2018). وكانت نسبة تحرر الـ Dox هي 69% من فريت الكوبلت المغلف بالاكزانتان وذلك بعد 120 ساعة من التحريك (Mushtaq et al., 2017).

4- الاستنتاجات Conclusion

تم في هذه الدراسة، تحميل الدوكسوروبيسين على جسيمات نانوية من فريت الزنك المعدلة بحمض الهيالورونيك، ذات الأبعاد 16.8nm (الشيخ، ي، وآخرون، 2025)، والحصول على فريت الزنك النانوي المعدل السطح بحمض الهيالورونيك والمحمل بالدوكسوروبيسين ZF@HA@Dox بنسبة 8.95% .

خلصت الدراسة إلى أنه يمكن تحضير نظام استهداف دوائي، مؤلف من فريت الزنك كجسيمات نانوية معدلة السطح بجزيئات من حمض الهيالورونيك، كجزيئات مستهدفة، محملة بالدوكسوروبيسين ZF@HA@Dox . وهذا النظام ذو توافق حيوي كبير، إذ لم تُستعمل أية محلات عضوية خطيرة أو مواد رابطة قد يكون لها تأثيرات لاحقة.

إن تحميل دواء الدوكسوروبيسين، المستعمل كعلاج للسرطان، على فريت الزنك المعدل بحمض الهيالورونيك يضيف ميزة الانتقائية لهذا الدواء، ويقلل بذلك من الآثار الجانبية السامة لهذا الدواء. حيث تعمل جزيئات حمض الهيالورونيك على توجيه الدوكسوروبيسين المُحمل إلى جدران الخلية السرطانية أكثر من الخلية السليمة. كما أن التحرر المحدود للدوكسوروبيسين من ZF@HA@Dox في الوسط القلوي، وهو وسط الدم، وتحرره الكبير في الوسط الحمضي الذي هو وسط الخلية السرطانية يجعل هذا الدواء ذو صفات انتقائية هامة أيضاً. إضافة إلى اكتساب الدوكسوروبيسين ميزة التحرر المديد، حيث يحتاج إلى 24 ساعة تقريباً ليتحرر 90% من الدوكسوروبيسين. فضلاً عن خواص فريت الزنك السوبر بارا مغناطيسية، التي تمكن من التحكم بالفريت وبالدوكسوروبيسين المُحمل عليه من خلال حقل مغناطيسي خارجي يتم توجيهه إلى المكان المطلوب.

5- المراجع References

- (1) الشيخ، يوسف، حليبي، د. أحمد، أوتكو، د. كنان " تحضير فريت الزنك النانوي المعدل السطح بحمض الهيالورونيك وتوصيفه" مجلة بحوث جامعة إدلب، المجلد 8، العدد 1، 2025.
- 2) Ashrafizadeh, M., Mirzaei, S., Gholami, M. H., Hashemi, F., Zabolian, A., Raei, M., Hushmandi, K., Zarrabi, A., Voelcker, N. H., Aref, A. R., Hamblin, M. R., Varma, R. S., Samarghandian, S., Arostegi, I. J., Alzola, M., Kumar, A. P., Thakur, V. K., Nabavi, N., Makvandi, P., ... Orive, G. (2021). Hyaluronic acid-based nanoplatfroms for Doxorubicin: A review of stimuli-responsive carriers, co-delivery and resistance suppression. *Carbohydrate Polymers*, 272(March), 118491. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118491>
- 3) Bansal, R., Singh, R., & Kaur, K. (2021). Quantitative analysis of doxorubicin hydrochloride and arterolane maleate by mid IR spectroscopy using transmission and reflectance modes. *BMC Chemistry*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s13065-021-00752-3>
- 4) Bellala, S., Viswanathan, K., Guntakanti, U., Kowthalam, A., Han, S. S., Kummara, M. R., Obireddy, S. R., & La, W.-F. (2024). Composite Microgels Loaded with Doxorubicin-Conjugated Amine-Functionalized Zinc Ferrite Nanoparticles for Stimuli-Responsive Sustained Drug Release. *International Journal of Nanomedicine*, May, 5059–5070.
- 5) Cardoso, B. D., Rodrigues, A. R. O., Bañobre-López, M., Almeida, B. G., Amorim, C. O., Amaral, V. S., Coutinho, P. J. G., & Castanheira, E. M. S. (2021). Magneto liposomes based on shape anisotropic calcium/magnesium ferrite nanoparticles as nanocarriers for doxorubicin. *Pharmaceutics*, 13(8). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13081248>
- 6) Dahiya, M. S., Tomer, V. K., & Duhan, S. (2018). Metal-ferrite nanocomposites for targeted drug delivery. In *Applications of Nanocomposite Materials in Drug Delivery*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813741-3.00032-7>
- 7) Danmaigoro, A., Noor, M. H. M., Selvarajah, gayathri thevi, & Mahmud, R. (2017). Development of Cockleshell (Anadara granosa) Derived CaCO₃ Nanoparticle for Doxorubicin Delivery. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience Computational and Theoretical Nanoscience*, 14. <https://doi.org/10.1166/jctn.2017.6920>

- 8) Dey, C., Ghosh, A., Ahir, M., Ghosh, A., & Goswami, M. M. (2018). Improvement of Anticancer Drug Release by Cobalt Ferrite Magnetic Nanoparticles through Combined pH and Temperature Responsive Technique. *ChemPhysChem*, 19(21), 2872–2878. <https://doi.org/10.1002/cphc.201800535>
- 9) Dovedytis, M., Liu, Z. J., & Bartlett, S. (2020). Hyaluronic acid and its biomedical applications: A review. *Engineered Regeneration*, 1(October), 102–113. <https://doi.org/10.1016/j.engreg.2020.10.001>
- 10) Fan, D., Cao, Y., Cao, M., Wang, Y., Cao, Y., & Gong, T. (2023). Nanomedicine in cancer therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01536-y>
- 11) Feng, C., Wang, Y., Xu, J., Zheng, Y., Zhou, W., Wang, Y., & Luo, C. (2024). Precisely Tailoring Molecular Structure of Doxorubicin Prodrugs to Enable Stable Nanoassembly, Rapid Activation, and Potent Antitumor Effect. *Pharmaceutics*, 16(12). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16121582>
- 12) Huang, G., & Huang, H. (2018). Application of hyaluronic acid as carriers in drug delivery. *Drug Delivery*, 25(1), 766–772. <https://doi.org/10.1080/10717544.2018.1450910>
- 13) Husain, S., Yusup, M., Haryanti, N. H., Suryajaya, Saukani, M., Rodiansono, Arjo, S., & Riyanto, A. (2021). Characteristics of zinc ferrite nanoparticles (ZnFe 2O₄) from natural iron ore. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 758(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/758/1/012001>
- 14) Kalaiselvan, C. R., Laha, S. S., Somvanshi, S. B., Tabish, T. A., Thorat, N. D., & Sahu, N. K. (2022). Manganese ferrite (MnFe₂O₄) nanostructures for cancer theranostics. *Coordination Chemistry Reviews*, 473, 214809. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2022.214809>
- 15) Kamińska, K., & Cudnoch-Jędrzejewska, A. (2023). A Review on the Neurotoxic Effects of Doxorubicin. *Neurotoxicity Research*, 41(5), 383–397. <https://doi.org/10.1007/s12640-023-00652-5>
- 16) Kefeni, K. K., Msagati, T. A. M., Nkambule, T. T., & Mamba, B. B. (2020). Spinel ferrite nanoparticles and nanocomposites for biomedical applications and their toxicity. *Materials Science and Engineering C*, 107(September 2019), 110314. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110314>

- 17) Liu, X., Yuan, Z., Zhao, T., Zhang, H., Guo, L., & Tao, Q. (2022). Synthesis of monodispersed calcium ferrite (CaFe_2O_4) nanocubes with hydrophilic surface for pH-induced drug release and tongue squamous cell carcinoma treatment. *Physica E: Low-Dimensional Systems and Nanostructures*, 140(July 2021), 115178. <https://doi.org/10.1016/j.physe.2022.115178>
- 18) Majd, A., Safaeijavan, R., Heydarinasab, A., & Moniri, E. (2023). Synthesis of Copper Oxide Nanoparticles Coated on 3-Glycidoxypolytrimethoxysilane /Folic Acid/ Hyaluronic Acid, and Its Application as Drug Delivery System: Kinetics, Equilibrium, and Thermodynamic Studies. *Journal of Cluster Science*, 34(6), 3135–3146. <https://doi.org/10.1007/s10876-023-02453-4>
- 19) Malfanti, A., Catania, G., Degros, Q., Wang, M., Bausart, M., & Pr  at, V. (2022). Design of Bio-Responsive Hyaluronic Acid–Doxorubicin Conjugates for the Local Treatment of Glioblastoma. *Pharmaceutics*, 14(1). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14010124>
- 20) Mao, H. L., Qian, F., Li, S., Shen, J. W., Ye, C. K., Hua, L., Zhang, L. Z., Wu, D. M., Lu, J., Yu, R. T., & Liu, H. M. (2019). Delivery of Doxorubicin from Hyaluronic Acid-Modified Glutathione-Responsive Ferrocene Micelles for Combination Cancer Therapy [Research-article]. *Molecular Pharmaceutics*, 16(3), 987–994. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.8b00862>
- 21) Mushtaq, M. W., Kanwal, F., Islam, A., Ahmed, K., Zia-Ul-Haq, Jamil, T., Imran, M., Abbas, S. M., & Huang, Q. (2017). Synthesis and characterisation of doxorubicin-loaded functionalised cobalt ferrite nanoparticles and their in vitro anti-tumour activity under an AC-magnetic field. In *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* (Vol. 16, Issue 7, pp. 1663–1674). <https://doi.org/10.4314/tjpr.v16i7.27>
- 22) Okatan, M. B. (2005). *Microstructure development in nickel zinc ferrites* (Issue March).
- 23) Pacheco, A. R. F., Cardoso, B. D., Pires, A., Pereira, A. M., Araújo, J. P., Carvalho, V. M., Rodrigues, R. O., Coutinho, P. J. G., Castelo-Grande, T., Augusto, P. A., Barbosa, D., Lima, R. A., Teixeira, S. F. C. F., Rodrigues, A. R. O., & Castanheira, E. M. S. (2023). Development of pH-Sensitive Magnetoliposomes Containing Shape Anisotropic Nanoparticles for Potential Application in Combined Cancer Therapy.

- Nanomaterials*, 13(6). <https://doi.org/10.3390/nano13061051>
- 24) Pan, D. C., Krishnan, V., Salinas, A. K., Kim, J., Sun, T., Ravid, S., Peng, K., Wu, D., Nurunnabi, M., Nelson, J. A., Niziolek, Z., Guo, J., & Mitragotri, S. (2021a). Hyaluronic acid–doxorubicin nanoparticles for targeted treatment of colorectal cancer. *Bioengineering and Translational Medicine*, 6(1), 1–14. <https://doi.org/10.1002/btm2.10166>
 - 25) Pan, D. C., Krishnan, V., Salinas, A. K., Kim, J., Sun, T., Ravid, S., Peng, K., Wu, D., Nurunnabi, M., Nelson, J. A., Niziolek, Z., Guo, J., & Mitragotri, S. (2021b). Hyaluronic acid–doxorubicin nanoparticles for targeted treatment of colorectal cancer. *Bioengineering and Translational Medicine*, 6(1), 1–14. <https://doi.org/10.1002/btm2.10166>
 - 26) Perales-Pérez, O., & Cedeño-Mattei, Y. (2017). Optimizing Processing Conditions to Produce Cobalt Ferrite Nanoparticles of Desired Size and Magnetic Properties. *Magnetic Spinel - Synthesis, Properties and Applications*. <https://doi.org/10.5772/66842>
 - 27) Pinelli, F., Perale, G., & Rossi, F. (2020). Coating and functionalization strategies for nanogels and nanoparticles for selective drug delivery. *Gels*, 6(1), 1–16. <https://doi.org/10.3390/gels6010006>
 - 28) Ramnandan, D., Mokhosi, S., Daniels, A., & Singh, M. (2021). Chitosan, polyethylene glycol and polyvinyl alcohol modified mgfe2 o4 ferrite magnetic nanoparticles in doxorubicin delivery: A comparative study in vitro. *Molecules*, 26(13). <https://doi.org/10.3390/molecules26133893>
 - 29) Ruzhylo, L., & Sorokin, M. (2023). Hyaluronic Acid in Magnetic Nanoparticle Drug Delivery Systems for Targeted Chemotherapy of Cancer. *ResearchGate*, January, 2–4. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.10169.85600>
 - 30) Simon Vallières. (2016). Dose Enhancement with Nanoparticles in Radiotherapy Using Gold-Doxorubicin Conjugates. *Thesis for: Master of Science Advisor: Jan Seuntjens & Shirin Abbasinejad Enger*, August. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.24027.77601>
 - 31) Sulaiman, N. H., Ghazali, M. J., Majlis, B. Y., Yunas, J., & Razali, M. (2015). Superparamagnetic calcium ferrite nanoparticles synthesized using a simple solgel method for targeted drug delivery. *Bio-Medical Materials and Engineering*, 26(December), S103–S110. <https://doi.org/10.3233/BME-151295>
 - 32) Tian, G., Sun, X., Bai, J., Dong, J., Zhang, B., Gao, Z., & Wu, J. (2019).

- Doxorubicin-loaded dual-functional hyaluronic acid nanoparticles: Preparation, characterization and antitumor efficacy in vitro and in vivo. In *Molecular Medicine Reports* (Vol. 19, Issue 1, pp. 133–142). <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.9687>
- 33) Wang, Y., Zou, L., Qiang, Z., Jiang, J., Zhu, Z., & Ren, J. (2020). Enhancing Targeted Cancer Treatment by Combining Hyperthermia and Radiotherapy Using Mn-Zn Ferrite Magnetic Nanoparticles. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, 6(6), 3550–3562. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.0c00287>
- 34) Zahedifar, M. (2024). Application of nanotechnology in agriculture. *Nanotechnology to Monitor, Remedy, and Prevent Pollution*, 597–612. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15660-1.00023-X>
- 35) Zare, M., Samani, S. M., & Sobhani, Z. (2018). Enhanced intestinal permeation of doxorubicin using chitosan nanoparticles. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 8(3), 411–417. <https://doi.org/10.15171/apb.2018.048>