Research Article

Nova Biologica Reperta 8(2): 84-94 (2021)

Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115

https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press; DOI: 10.29252/nbr.8.2.84

مقاله پژوهشی

یافته‌های نوین در علوم زیستی

جلد ۸، شماره ۲، صفحات ۸۴ الی ۹۴ (۱۴۰۰)

انتشارات دانشگاه خوارزمی

بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی کمپلکس‌های کورکومین/ بتا- و گاما- سیکلودکسترین اصلاح شده با نانوذرات کیتوزان بر روی رده سلولی سرطان ریه A549

نینا علیزاده[۱،۲] و شکوفه ملک‌زاده[۲]

[۱]گروه شیمی تجزیه، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران؛ [۲]گروه شیمی تجزیه، دانشکده علوم پایه، پردیس دانشگاهی دانشگاه گیلان، رشت، ایران

مسئول مکاتبات: نینا علیزاده، n-alizadeh@guilan.ac.ir

چکیده. هدف این مطالعه بررسی برهم‌کنش اصلاح مولکول کمپلکس کورکومین (CUR) در حامل‌های بتا- و گاما- سیکلودکسترین (β-CD و γ-CD) با نانوذرات کیتوزان (CS) جهت دارورسانی هدفمند و مقایسه کارکرد بین آن‌ها بود. سیستم تحویل هدفمند دارویی شامل عامل درمانی نانوذرات CS بخش هدف‌گیری همان دارو و سیستم حامل CD است. محاسبات روابط تشکیل کمپلکس‌های اصلاح شده و کاربرد آن‌ها با استفاده از آنالیز داده‌های اسپکتروسکوپی UV-vis انجام شد. در این مطالعه نمودارهای طیف‌های اسپکتروسکوپی‌ها برای اثبات بهینه‌سازی ساختار مولکولی در کمپلکس‌های اصلاح شده رسم شدند. تحلیل داده‌های بررسی کاربرد آن‌ها با روش معادلات مربوطه انجام گرفت. پلی‌ساکارید کاتیونی CS با حضور عامل‌های آمینو و الکل در طول زنجیره‌های پلی-ساکارید آن را قادر می‌سازد تا پیوند ثابت کووالانسی را با کمپلکس‌ها ایجاد کند و زمینه حلالیت سیکلودکسترین را افزایش دهد. نانوذرات CS به واسطه پیوند-های هیدروژنی و برهم‌کنش‌های واندروالس هیدروژن گروه هیدروکسیل سیکلودکسترین با هیدروکسیل گروه فنولیک مولکول دارویی CUR تقویت پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند. اصلاح کمپلکس γ-CD با CS قوی‌ترین برهم‌کنش را با CUR نشان می‌دهد. هر دوی کمپلکس‌های CUR در سیستم میزبان CD-CS جهت انتقال بار از دارو به حامل و عامل درمانی است. نانوذرات CS خاصیت سیستم‌های تحویل هدفمند داروهای ضد سرطان را دارند. زیرا میدان خارجی CS را می‌توان برای هدایت دارو به سمت سلول‌های هدف خاص مورد استفاده قرار داد. سیستم میزبان γ-CD-CS به دلیل حلالیت زیاد و برهم‌کنش قوی آن بهترین میزبان به‌عنوان حامل و عامل درمانی برای داروی CUR است.

واژه‌های کلیدی. حامل‌های دارو، سیکلودکسترین، ضدسرطانی، کورکومین و نانوذرات کیتوزان

Evaluation of antioxidant and anti-cancer properties of curcumin / beta- and gamma-cyclodextrin complexes modified with chitosan nanoparticles on lung cancer cell A549

Nina Alizadeh[1, 2] & Shokufeh Malakzadeh[2]

[1]Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Guilan, P.B. 41335–1914, Rasht, Iran; [2]Department of Chemistry, Faculty of Science, University Campus 2, University of Guilan, Rasht, Iran

Correspondent author: Nina Alizadeh, n-alizadeh@guilan.ac.ir

Abstract. The aim of this study was to investigate the interaction modification of curcumin complex molecule (CUR) in beta- and gamma-cyclodextrin (β-CD and γ-CD) carriers with chitosan (CS) nanoparticles for targeted drug delivery and to compare their performance. The targeted drug delivery system includes the therapeutic agent of the CS nanoparticles targeting section of the same drug and the CD carrier system. Calculations of the relationships of the formation of modified complexes and their application were performed using UV-vis spectroscopic data analysis. In this study, spectroscopic spectrum diagrams were drawn to prove the optimization of molecular structure in the modified complexes. Data analysis was performed using their respective equations. The cationic polysaccharide CS, with the presence of amino agents and alcohols along the polysaccharide chains, enables it to form a covalent bond with the complexes and increase the solubility of cyclodextrin. CS nanoparticles strengthen the hydrogen bond by hydrogen bonding and van der Waals hydrogen interactions of the hydroxyl cyclodextrin group with the hydroxyl phenolic group of the drug molecule CUR. Modification of the γ-CD complex with CS shows the strongest interaction with CUR. Both CUR complexes are in the CD-CS host system to transfer the charge from the drug to the carrier and the therapeutic

Received 28.08.2020/ Revised 03.11.2020/ Accepted 31.12.2020/ Published 01.07.2021

دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۰۷/ اصلاح: ۱۳۹۹/۰۸/۱۳/ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۱۱/ انتشار: ۱۴۰۰/۰۴/۱۰

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2026-11-03]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.3.4]

[DOI: 10.52547/nbr.8.2.84]

agent. CS nanoparticles have the property of targeted delivery systems for anticancer drugs because the CS external field can be used to direct the drug to specific target cells. The γ-CD-CS host system is the best host as a carrier and therapeutic agent for CUR due to its high solubility and strong interaction.

Key words. anticancer, chitosan nanoparticles, curcumin, cyclodextrin, drug carriers

مقدمه

بررسی ساختارهای دارویی زیادی با کمک علم شیمی تاکنون صورت گرفته است که بیش از نیمی از این ساختارها در آب کم محلول هستند. فرموله کردن این ساختارهای کم محلول در آب به دلیل سرعت انحلال پایین و پخش آرام آن‌ها از مشکلات داروسازان است. سیستم‌های معمول رهایش دارو در بدن با وعده‌های متناوب باعث ایجاد نوساناتی در غلظت دارو در خون گاهی بین دو حد سمی و درمانی می‌شوند که این مشکل علاوه‌بر مسایلی مانند درد تزریق و مشکل بلع قرص‌ها توسط برخی از بیماران موجب توجه به روش‌های مناسب انتقال دارو شده است (Szente et al., 1998; Zaibunnisa et al., 2009). سطح درمانی دارو در بیماران باید به اندازه‌ای باشد که تا زمان مصرف بعدی دارو نیاز بیمار را برآورده کند. اما متأسفانه کاهش یا افزایش بی‌رویه سطح دارو در بدن تأثیرگذاری آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد. به‌منظور رفع این مشکلات از داروها با کمک حلال‌ها و پراکندگی مایعات از وارد کردن دارو در حامل‌هایی بزرگ مانند سیکلودکسترین‌ها استفاده شده است (Khalil et al., 2012). دارورسانی هدفمند تلاش در جهت افزایش تجمع دارویی در محل‌هایی خاص در زمان مشخص است. به این دلیل تکنولوژی‌های رهایش آهسته و کنترل شده دارو مطرح شدند (Rachmawati et al., 2013). کورکومین یا بیس (۴-هیدروکسی-۳-متوکسی فنیل)-۱،۶-هپتادین-۳،۵- دیون یک ترکیب پلی‌فنولی طبیعی استخراج شده از ریزوم گیاه زردچوبه است. در نوشته‌ها برای کورکومین (CUR) مزایای مختلفی از جمله ضدسرطان، آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدمیکروبی گزارش شده است (Wu et al., 2013). فعالیت به‌طور عمده CUR خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن است که به گروه هیدروکسیل حلقه فنل نسبت داده می‌شود (Berwin Singh, 2013; Kazemi et al., 2011). اما برنامه‌های کاربردی CUR به دلیل نامحلول بودن آن در آب و حساسیت به شرایط قلیایی، حرارت، نور و آنزیم‌ها محدود است. امروزه از آن بیشتر در داروسازی و چاشنی رنگی در صنایع غذایی استفاده می‌شود. از آن‌جایی که CUR خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌توموری دارد (Ghanghoria et al., 2013). در طی بیست سال گذشته به‌عنوان یک داروی ضدجهش ژنیتیکی مورد توجه قرار گرفته است. در سال‌های گذشته اثر ضدجهش آن بر روی سلول‌های سرطانی بررسی شدند. کمپلکس‌های بتا-و گاما-سیکلودکسترین (γ-CD و β-CD) با CUR را به کمک حل کردن در حلال و روش محلول‌سازی سنتز کرده‌اند. نشان داده شد که نسبت مولی CURبه β-CD و CUR به γ-CD یک به یک است (Paramera et al., 2011). این پیوندهای هیدروژنی محکم فقط ناشی از گروه فنولی CUR اثبات شده‌اند (Dutta & Ikiki, 2013). نسبت مولی CUR به سیکلودکسترین‌ها به گونه‌ای یک به یک است که همه مولکول‌های CUR به صورت کمپلکس شده است (Jantarat et al., 2014). اما چون مقداری از پیوندهای هیدروژنی مربوط به گروه کربوکسیل ناپایدار بوده CUR رنگی در ظرف باقی می‌ماند. بنابراین نتیجه گرفتند که باید قدرت برهم‌کنش بین داروهای شیمیایی مانند CUR با سیکلودکسترین‌ها با استفاده از نانوذرات پوشش دهنده جایگاه پیوندهای هیدروژنی بیشتر خواهد شد. مقدار درمان با نانوذرات توانا در ایجاد پیوندهای هیدروژنی افزایش می‌یابد از این‌رو آن‌ها عامل درمانی داورسان نامیده می‌شوند (Jahed et al., 2014; Mangolim et al., 2014). کیتوزان (CS) با فرمول شیمیایی ($C_6H_{11}NO_4$) از استیل‌زدایی کیتین به‌دست می‌آید که به دلیل غیرسمی بودن، خاصیت جذب بالا، امکان تجزیه در طبیعت، سازگاری با محیط زیست، مقرون به صرفه بودن از نظر اقتصادی، توانایی حذف محدوده وسیعی از رنگ‌ها، سینتیک سریع و در نهایت امکان تهیه مشتقات فراوان از آن بسیار مورد توجه است (Ma et al., 2014). خصوصیات CS اغلب به طبیعت شیمیایی آن بستگی دارد. از جمله: درجه استیل‌زدایی، جرم مولکولی، کریستالیته، بار یونی گروه‌های عاملی (Gautam et al., 2014). پلی‌ساکارید کاتیونی CS با حضور عامل‌های آمینو و الکل در طول زنجیره‌های پلی‌ساکارید آن را قادر می‌سازد تا پیوند ثابت کووالانسی را با کمپلکس‌ها ایجاد کند و زمینه حلالیت سیکلودکسترین را افزایش دهد (Popat et al., 2014; Ansari et al., 2014). نانوذرات پلی‌ساکاریدی CS همراه با کمپلکس‌های درونی CUR/سیکلودکسترین‌ها جهت به‌دست آوردن نانوذرات ماندگار و با پایداری بالا با روش‌های محلول‌سازی زمان ممکن نگهداری طولانی‌تری خواهند داشت (Anirudhan et al., 2016; Wang et al., 2015). در این تحقیق برهم‌کنش‌های بین حامل‌های دارویی میزبان سیکلودکسترین با مولکول مهمان CUR

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.3.4]
[DOI: 10.52547/nbr.8.2.84]

در حضور عامل درمانی نانوذرات CS بررسی می‌شوند. با استفاده از بررسی جذب اسپکتروسکوپی UV-vis بهبود دارو در نانوذره کمپلکس‌های اصلاح شده و کاربردهای مهم آن مشخص می‌شوند (Moussa et al., 2016; Zhang et al., 2016). بررسی برهم‌کنش بین دارو با حامل‌های سیکلودکسترین اصلاح شده با نانوذرات CS به داورسانی هدفمند کمک بسیاری خواهد کرد. در این تحقیق همچنین تمامی طیف‌های اسپکتروسکوپی FTIR مواد خالص و کمپلکس‌ها بررسی و با هم مقایسه شدند (Aadinath et al., 2016; Jinxia et al., 2016).

مواد و روش‌ها

تهیه نانوذرات کمپلکس‌های CUR/CDs-CS

ابتدا کمپلکس‌های کورکومین (CUR) متانولیک با غلظت ۰/۰۶ میلی‌مولار در حامل‌های بتا- و گاما- سیکلودکسترین (β-CD و γ-CD) با نانوذرات کیتوزان (CS) محلول در اسیداستیک ۱ درصد به صورت خالص، کمپلکس‌های درهم‌جای دوتایی و سه‌تایی ساخته شدند. طیف جذب UV-Vis کمپلکس اصلاح شده با نانوذرات CS نشانگر شروع جذب از ۶۰۰ نانومتر (nm) است (Darandale & Vavia, 2012). جابه‌جایی پیک CUR از پیک ماکزیمم ۴۱۸ nm به پیک‌های ۴۲۴ nm و ۴۲۳ در اثر تشکیل کمپلکس‌های اصلاح شده به ترتیب CUR/β-CD-CS و CUR/γ-CD-CS نسبت داده می‌شود. طول‌موج قطع شده از طیف ۵۵۰ nm بود. انرژی شکاف تشکیل کمپلکس نانو ذره بر اساس معادله انرژی انیشتین محاسبه شد (Krishna Mohan et al., 2012):

$E_g = h.c / \lambda$ (رابطه یک)

E_g انرژی باند شکاف، h ثابت ثابت، c سرعت نور و λ طول‌موج قطع شده به‌دست آمده از طیف کمپلکس اصلاح شده با نانوذرات است.

خاصیت آنتی‌اکسیدانی CUR/CDs-CS

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی در مقدار غلظت ۰/۰۴ میلی مولار نمونه‌های داروی CUR برای حذف رادیکال آزاد DPPH' بود (Jahed et al., 2014). تغییرات جذب نمونه ها در ۵۱۷ نانومتر در یک اسپکتروفتومتر UV-Vis اندازه‌گیری شد. و فعالیت حذف رادیکال آزاد با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Mangolim et al., 2014):

$AU = (A_0 - A_s)/A_0 \times 100$ (رابطه دو)

A_0 و A_s مقدار جذب کنترل و نمونه است. منحنی AU خاصیت آنتی‌اکسیدانی به صورت درصد حذف رادیکال آزاد DPPH' بیان شد (Ma et al., 2014).

داورسانی با نانوذرات CS در آزادسازی دارو حساس به pH

برای مطالعه داورسانی حاصل از تشکیل کمپلکس اصلاح شده با نانوذرات CS در pH اسیدی درصد آزادسازی داروی CUR به صورت زیر محاسبه شد (Gautam et al., 2014):

٪ آزادسازی = $OD_1 / OD_2 \times 100$ (رابطه سه)

جایی که OD_1 = جذب CUR آزاد و OD_2 = جذب CUR در کمپلکس سیکلودکسترین یا کمپلکس حاوی سیکلودکسترین-نانوذرات CS است. مقادیر جذب برای هر ۵ دقیقه در طول موج ماکزیمم CUR ۴۱۸ نانومتر بررسی شده است (Popat et al., 2014).

خاصیت ضدسرطانی CUR/CDs-CS

سمیت سلولی با استفاده از آزمون MTT بر روی سلول‌های سرطانی ریه (A549) اندازه‌گیری شد (Zhang et al., 2016). مقدار نمونه‌های استفاده شده ۱۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. (A549) سلول‌های سرطانی جذب در ۵۷۰ نانومتر با استفاده از یک میکروپلاستی خوان Bio-Rad (Model 680 USA) اندازه‌گیری شد. نتایج به صورت میانگین بیان شد. درصد سمیت سلولی بر اساس فرمول زیر محاسبه شد (Mashhadi Akbar Boojar, 2019):

سمیت (٪) = $(A_0 - A_1) / A_0 \times 100$ (رابطه چهار)

جایی که A_0 جذب کنترل و A_1 جذب نمونه مورد آزمایش است (Moussa et al., 2016).

نتایج

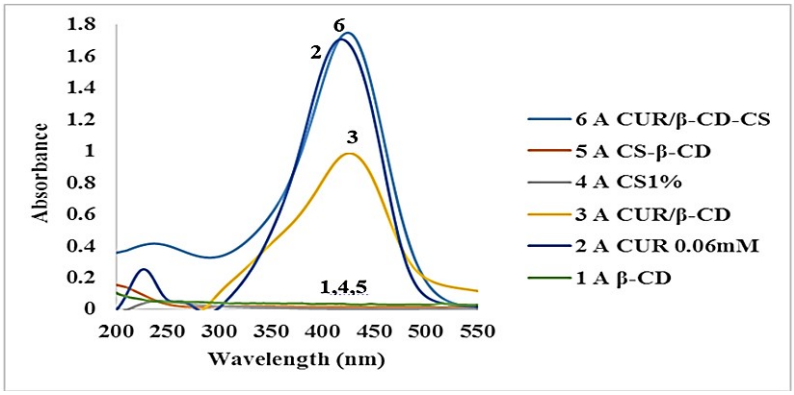
اسپکتروسکوپی UV-vis نانوذرات کمپلکس‌های CUR/CDs-CS

طیف‌های جذب UV-vis در شکل‌های ۱ و ۲ برهم‌کنش درون مولکولی و شکاف انرژی برای نانوذرات کمپلکس‌های اصلاح شده CUR/سیکلودکسترین- نانوذرات CS بررسی شدند. تغییرات جذب برای نشان دادن جهت انتقال الکترون بین CUR متانولیک و هر کدام از سیکلودکسترین‌ها و سیکلودکسترین‌ها-نانوذرات CS مقایسه شدند (Darandale & Vavia, 2012). تشکیل نانوذرات کمپلکس‌های اصلاح شده به ترتیب CUR/β-CD-CS و CUR/γ-CD-CS به برهم‌کنش اکسیژن کربوکسیل و گروه فنولی نسبت داده می‌شود. این موفقیت در پوشش نانوذرات CS ۱ درصد محلول در اسیداستیک برای افزایش پیوندهای هیدروژنی مولکول‌های میزبان-مهمان نانوذره کمپلکس است (Krishna Mohan et al., 2012).

اسپکتروسکوپی FTIR نانوذرات کمپلکس‌های CUR/CDs-CS

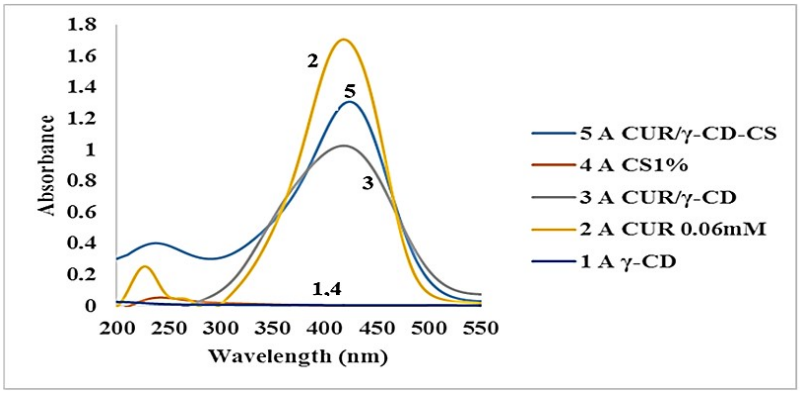
جهت برهمکنش نوکلئوفیلی و الکتروفیلی را می‌توان با استفاده از طیف‌های FTIR در شکل‌های ۳ و ۴ پیش‌بینی کرد.

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.3.4]
[DOI: 10.52547/nbr.8.2.84]



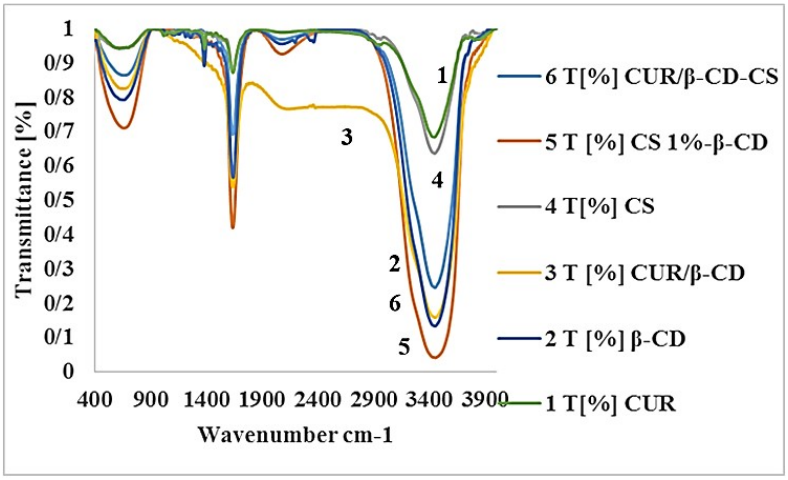
شکل ۱- طیف‌های جذب UV-vis برای β-CD خالص، CUR آزاد در ۴۱۸ nm، کمپلکس CUR/β-CD، CS ۱٪ خالص و کمپلکس اصلاح شده CUR/β-CD-CS در ۴۲۴ nm.

Figure 1. UV-vis absorption spectra for pure β-CD, free CUR at 418 nm, CUR/β-CD complex, pure CS1% and modified CUR/β-CD-CS complex at 424 nm.



شکل ۲- طیف‌های جذب UV-vis γ-CD خالص، CUR آزاد در ۴۱۸ nm، کمپلکس CUR/γ-CD ، CS ۱ درصد خالص و کمپلکس اصلاح شده CUR/γ-CD-CS در ۴۲۳ nm.

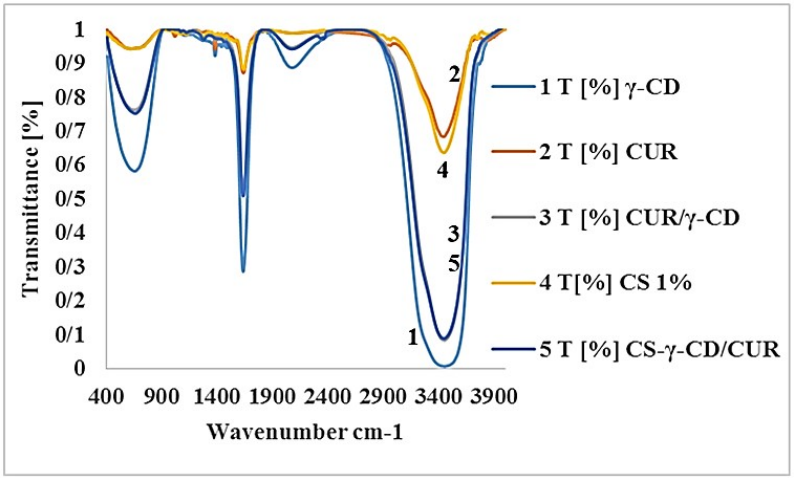
Figure 2. Pure UV-vis absorption spectra of pure γ-CD, free CUR at 418 nm, CUR/γ-CD complex, pure CS1% and CUR/γ-CD-CS modified complex at 423 nm.



شکل ۳- طیف‌های FTIR برای CUR آزاد، β-CD خالص، کمپلکس CUR/β-CD، CS خالص، β-CD-CS و کمپلکس اصلاح شده CUR/β-CD-CS.

Figure 3. FTIR spectra for free CUR, pure β-CD, CUR/β-CD complex, pure CS, β-CD-CS and CUR/β-CD-CS modified complex.

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.3.4]
[DOI: 10.52547/nbr.8.2.84]



شکل ۴- طیف‌های FTIR برای γ-CD خالص، CUR آزاد، کمپلکس CUR/γ-CD، CS خالص و کمپلکس اصلاح شده CUR/γ-CD-CS.

Figure 4. FTIR spectra for pure γ-CD, free CUR, pure CUR/γ-CD complex, pure CS1% and pure CS CUR/γ-CD-CS modified complex.

جدول ۱- مقایسه بین شدت CUR/β-CD و CUR/β-CD-CS.

Table 1. Comparison between CUR /β-CD and CUR/β-CD-CS intensities.

گروه عاملی	عدد موج (cm^{-1})		تغییرات Δδ
	CUR/β-CD	CUR/β-CD-CS	
v[OH] متقارن و نامتقارن	۳۴۴۶/۵۵	۳۴۴۵/۷۱	-۰/۸۴
v[O–H] ارتعاش خمشی	۱۶۳۸/۱۹	۱۶۴۶/۰۱	+۷/۸۲
v[=C–H] اسکلتی و آروماتیک	۶۵۵/۴۰	۶۲۳/۵۳	-۳۱/۸۷

جدول ۲- مقایسه بین شدت CUR و CUR/β-CD-CS.

Table 2. Comparison between CUR and CUR /β-CD-CS intensities.

گروه عاملی	عدد موج (cm^{-1})		تغییرات Δδ
	CUR	CUR/β-CD-CS	
v[OH] متقارن و نامتقارن	۳۴۴۲/۹۴	۳۴۴۵/۷۱	+۲/۷۷
v[O–H] ارتعاش خمشی	۱۶۳۸/۲۵	۱۶۴۶/۰۱	+۷/۷۶
v[=C–H] اسکلتی و آروماتیک	۶۳۴/۴۵	۶۲۳/۵۳	-۱۰/۹۲

جدول ۳- مقایسه بین شدت CUR/γ-CD و CUR/γ-CD-CS.

Table 3. Comparison between CUR /γ-CD and CUR /γ-CD-CS intensities.

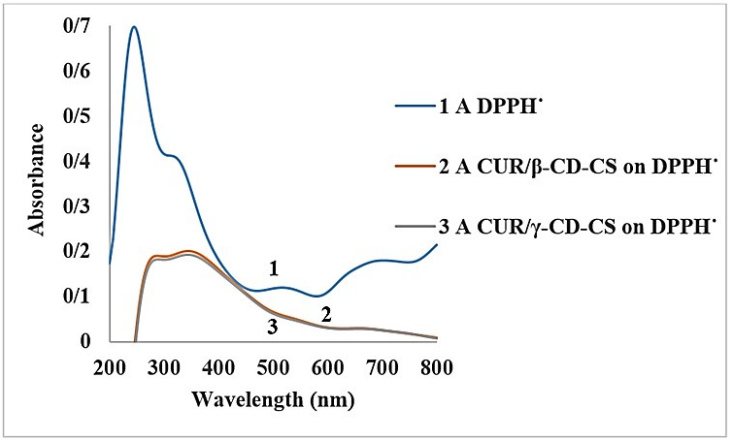
گروه عاملی	عدد موج (cm^{-1})		تغییرات Δδ
	CUR/γ-CD	CUR/γ-CD-CS	
v[OH] متقارن و نامتقارن	۳۴۴۷/۷۲	۳۴۴۶/۳۱	-۱/۴۱
v[O–H] ارتعاش خمشی	۱۶۳۶/۷۱	۱۶۳۶/۵۰	-۰/۲۱
v[=C–H] اسکلتی و آروماتیک	۶۶۲/۷۹	۶۶۷/۹۷	+۵/۱۸

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.3.4]
[DOI: 10.52547/nbr.8.2.84]

جدول ۴- مقایسه بین شدت CUR و CUR/γ-CD-CS.

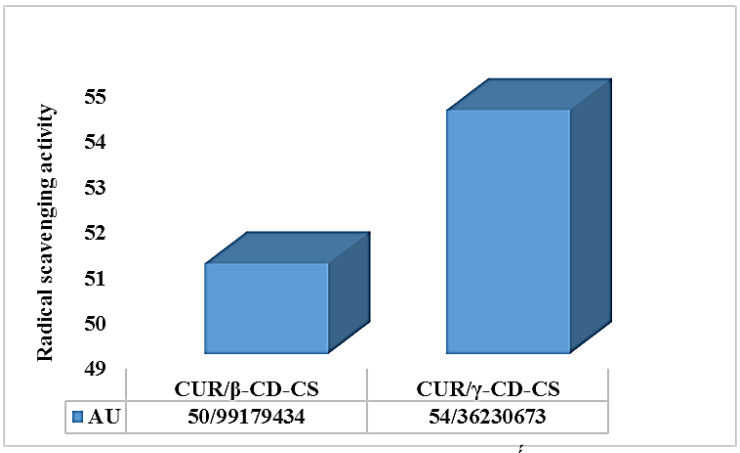
Table 4. Comparison between CUR and CUR/γ-CD-CS intensities.

گروه عاملی	عدد موج (cm^{-1})		تغییرات Δδ
	CUR	CUR/γ-CD-CS	
متقارن و نامتقارن ν[OH]	۳۴۴۲/۹۴	۳۴۴۶/۳۱	+۳/۳۷
ارتعاش خمشی ν[O–H]	۱۶۳۸/۲۵	۱۶۳۶/۵۰	-۱/۷۵
اسکلتی و آروماتیک ν[=C–H]	۶۳۴/۴۵	۶۶۷/۹۷	+۳۳/۵۲



شکل ۵- طیف‌های UV-vis اثر کمپلکس‌های CUR/β-CD-CS و CUR/γ-CD-CS برروی رادیکال 'DPPH.

Figure 5. UV-vis spectra Effect of CUR/β-CD-CS and CUR/γ-CD-CS complexes on DPPH' radical.



شکل ۶- نمودار سرعت حذف 'DPPH توسط کمپلکس‌های CUR/β-CD-CS و CUR/γ-CD-CS.

Figure 6. DPPH́ removal rate diagram by CUR/β-CD-CS and CUR/γ-CD-CS complexes.

جدول‌های ۱ تا ۴ به صورت کیفی مقایسه شدت جذب‌ها را به‌منظور مشخص کردن برهم‌کنش‌های درون مولکولی بین CUR/سیکلودکسترین‌ها و نانوذرات CS نشان می‌دهند. برای تعیین تغییر CUR آزاد و پایداری همراه با نامستقر بودن الکترون بین دهنده و پذیرنده به‌کار می‌رود (Berwin Singh, 2013). پایداری حاصل از تشکیل کمپلکس دوتایی سیکلودکسترین‌ها با کورکومین از برهم‌کنش بارهای منفی به دست آمده بود (Vivek et al., 2009). میزان پایداری حاصل از تشکیل کمپلکس اصلاح‌شده CUR با سیکلودکسترین‌ها در حضور نانوذره کاتیونی CS بیشتر است. بنابراین همه نانوذرات کمپلکس‌ها دارای برهم‌کنش‌هایی از نوع پیوند هیدروژنی هستند. درنتیجه کلیه برهم‌کنش‌های CUR با حلقه سیکلودکسترین در حضور نانوذره کاتیونی CS محکم‌تر است (Dutta & Ikiki, 2013).

خاصیت آنتی اکسیدانی نانوذرات کمپلکس‌های CUR/CDs-CS

جهت تعیین میزان پایداری خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارو کمپلکس شده تاثیر کمپلکس‌های اصلاح شده CUR/β-CD-CS و CUR/γ-CD-CS بر 'DPPH در شکل‌های ۵ و ۶ نشان داده شده است. مقایسه کاربرد آنتی‌اکسیدانی داروی CUR آزاد با کمپلکس‌های CUR/β-CD، CUR/γ-CD، کمپلکس‌های

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.3.4]
[DOI: 10.52547/nbr.8.2.84]

اصلاح شده CUR/β-CD-CS و CUR/γ-CD-CS محاسبه شدند (Jahed et al., 2014).

خاصیت آنتی‌اکسیدانی CUR با تشکیل کمپلکس اصلاح شده CUR/β-CD-CS و CUR/γ-CD-CS با استفاده از رابطه (۲) به ترتیب ۵۰/۹۹ درصد و ۳۶ /۵۴ درصد نزدیک‌تر به مقدار مطلوب IC50 محاسبه شدند (Mangolim et al., 2014).

دارورسانی با نانوذرات CS در آزادسازی دارو حساس به pH

در شکل‌های ۷ و ۸ سرعت آزادسازی کمپلکس‌های CUR/سیکلودکسترین‌ها با کمپلکس‌های اصلاح شده توسط نانوذرات اسیدی CS محاسبه و با همدیگر مقایسه شدند. آزادسازی CUR از این نانوذرات CD-CS از سینتیک مرتبه صفر است و بیشتر پایداری دارویی متعادل در pH اسیدی حاصل از نانوذرات CS است (Popat et al., 2014).

خاصیت ضدسرطانی نانوذرات کمپلکس‌های CUR/CDs-CS

بر اساس محاسبات خاصیت ضدسرطانی در شکل‌های ۹ و ۱۰ مقدار ضدسرطانی در نانوذرات کمپلکس اصلاح شده CUR/γ-CD-CS به‌منظور حذف سلول‌های سرطانی ۶۱/۸۸ درصد است. از آن‌جا که مقدار غلظت مناسب دارو در سیستم ایمنی بدن نسبت به IC50 مقایسه می‌شود و برای نانوذرات کمپلکس اصلاح شده CUR/γ-CD-CS مقدار سمیت سلولی نزدیک‌تر به IC50 شد (Jinxia et al., 2016). بنابراین نانوذرات کمپلکس اصلاح شده CUR/γ-CD-CS مناسب‌ترین نانوذره‌کمپلکس برای درمان سلول های سرطانی است. در شکل‌های ۹ و ۱۰ تمام نمونه‌های بارگذاری شده دارویی به علت اثر آهسته و مداوم داروی CUR از کمپلکس اصلاح شده با CD-CS سمیت کمتر و مطلوب‌تر از CUR خالص را نشان می‌دهند (Moussa et al., 2016).

بحث

تغییرات جذب نانوذره کمپلکس اصلاح شده CUR/γ-CD-CS بیشتر از نانوذره کمپلکس اصلاح شده CUR/β-CD-CS است که نشان‌دهنده برهم‌کنش محکم‌تر در نانوذره کمپلکس اصلاح شده CUR به‌وسیله پیوند قوی‌تر γ-CD با نانوذرات CS است (Rocks et al., 2012). بنابراین برهم‌کنش‌های هیدروژنی بین CUR و سیکلودکسترین در نانوذره کمپلکس CUR/γ-CD-CS بیشتر از نانوذره کمپلکس CUR/β-CD-CS شده است. انرژی شکاف‌های هر دو نانوذره کمپکلس براساس (رابطه ۱) تقریبا ۲/۹۳ ev محاسبه شد که نشان‌دهنده اثر نانوذرات CS بر کمپلکس‌ها است (Khalil et al., 2012). انرژی شکاف نشان دهنده برهم‌کنش شدید با الکترون‌ها است و این خنثی شدن الکترون برای نانوکمپلکس‌های اصلاح شده حفره سیکلودکسترین‌ها به‌وسیله زنجیر کاتیونی نانوذرات CS است. اتم اکسیژن گروه کربوکسیل روی حلقه مولکول داروی CUR، حفره هیدروژنی حامل سیکلودکسترین و پیوند هیدروژنی عامل درمانی نانوذرات کاتیونی CS تعیین‌کننده پیوند درونی نانوذرات کمپلکس‌ها است که نشان‌دهنده پیوندهای هیدروژنی و برهم-کنش کوالانسی هستند (Rachmawati et al., 2013).

چنان‌که در طیف‌های FTIR جایگاه‌های دهنده و پذیرنده الکترون در مولکول‌های CUR/سیکلودکسترین و نانوذرات CS با هم قابل مشاهده هستند. جایگاه دهنده الکترون اکسیژن کربونیلی در کورکومین ماکزیمم بوده و به‌عنوان مستعدترین جایگاه دهنده الکترون در سیستم CUR//سیکلودکسترین‌ها-CS عمل می‌کند (Wu et al., 2013). با توجه به اینکه موقعیت‌های دهنده الکترون در CUR اتم‌های اکسیژن هستند، بنابراین بر-هم‌کنش جفت الکترون ناپیوندی اکسیژن با اتم‌های هیدروژن سیکلودکسترین‌ها ونانوذرات CS انجام می‌شود. برهم‌کنش ناشی از جفت الکترون ناپیوندی اکسیژن در کمپلکس که γ-CD-CS و CURبزرگ‌تر از کمپلکس درهم‌جایCUR/β-CD-CS است (Ghanghoria et al., 2013). میزان انتقال بار از داروی CUR به میزبان سیکلودکسترین‌ها در حضور عامل درمانی نانوذرات کاتیونی CS بیشتر است. زیرا تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین ترکیب فنولی مهمان CUR در اثر پوشش بارهای مثبت CS در ساختار نانوذره کمپلکس با سیکلودکسترین‌ها پایدارتر شد. در نتیجه میزان انتقال بار در نانوذره کمپلکس اصلاح شده سه تایی بیشتر از کمپلکس دو مولکولی است (Jantarat et al., 2014).

در فرمولاسیون کمپلکس حاوی نانوذرات CS خاصیت آنتی‌کسیدان توسط گروه فنوکسی نمایش داده می‌شود که اهدای هیدروژن به رادیکال آزاد است. مکانیسم‌های پیشنهادی شامل (الف) پیوند مستقیم اتم هیدروژن حلقه فنل توسط رادیکال‌های آزاد است؛ (ب) فرایند انتقال الکترون و (ج) مکانیسم انتقال الکترونی پذیرفتن هیدروژن. در مورد کمپلکس‌های اصلاح شده با نانوذرات CS تخلیه 'DPPH از طریق مکانیزم الکتروفیلی پذیرفتن هیدروژن‌ها پیگیری می‌شود (Ma et al., 2014).

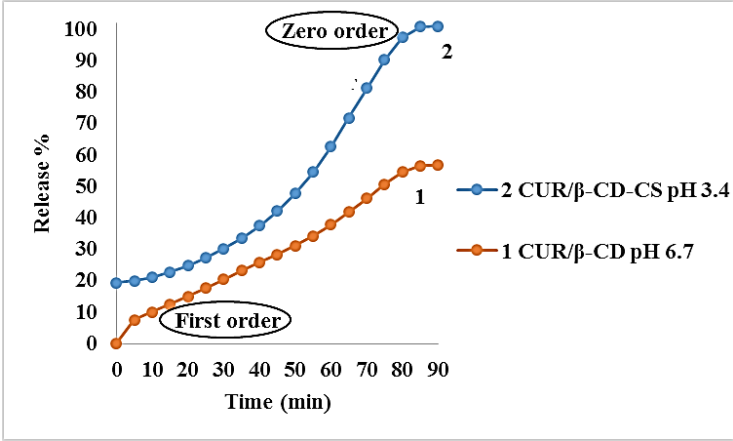
با به کارگیری نانوذرات CS با کمک حلال‌ها به‌منظور وارد کردن داروی CUR در حامل‌هایی بزرگ مانند سیکلودکسترین-ها استفاده شده است. چون دارورسانی هدفمند تلاش در جهت افزایش آزادسازی کمپلکس دارویی در محل‌هایی خاص در زمان مشخص است. به این دلیل تکنولوژی رهایش آهسته و کنترل شده دارو استفاده شدند (Gautam et al., 2014). دو منحنی آزادسازی دارویی از میزبان سیکلودکسترین‌ها ابتدا سینتیک

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.3.4]
[DOI: 10.52547/nbr.8.2.84]

مرتبه یک را دنبال می‌کنند. اما بعد از ۴۵ دقیقه سینتیک مرتبه صفر پایدار می‌ماند. در نانوذرات کمپلکس اصلاح شده CUR/γ-CD-CS حدود ۸۸ درصد دارو پس از ۹۰ دقیقه آزاد می‌شود و pH = ۲/۳ ناشی از برهم‌کنش هیدروژنی قوی γ-CD با نانوذرات CS ثابت می‌شود (Ansari et al., 2014). بنابراین در محیط اسیدی نانوذرات CS مقدار بیشتری از دارو را با پدیده آزادسازی پایدار رسانش می‌کند. در pH معمولی سیکلودکسترین‌ها حدود ۷۵-۵۵ درصد از دارو با سرعت کمتر آزادسازی شده است. بنابراین اثبات شد که این نانوذرات کمپلکس حاوی CS دارای کارایی بالا برای دارورسانی هستند. زیرا بازده آزاد شدن دارو در pH اسیدی پس از ابتدای سینتیک مرتبه یک است و سینتیک مرتبه صفر بعد از ۴۵ دقیقه درجه آزاد شدن پایدار برای مدت طولانی کمپلکس محلول را در طولانی‌مدت فراهم می‌آورد. در نتیجه سنتز شیمیایی ساده مرطوب از نانوذرات CS و عملکرد سطح با سیکودکسترین‌ها برای دارورسانی داروهای نامحلول با بارگیری داروها توسط نانوذرات CS بالاتر است (Anirudhan et al., 2015). نانوذرات زیست سازگار CS متصل به CDها برای اصلاح هیدروفوبیک بودن CUR و pH آن موجب دارورسانی مداوم دارو در زیست پزشکی شدند. کاهش pH در تحویل دارو با استفاده از نانوذرات CS کارکردی به علت پوشش در اطراف CUR با سیکودکسترین موجب ایجاد کمپلکس شدن بیشتر داروی آزاد شد. زمان تاثیر دارو به صورت نانوذره کمپلکس اصلاح شده بیشتر و پایداری آن مطلوب می‌شود.

کمپلکس‌های درهم‌جای اصلاح شده نشان می دهند که اثر دارو در مایع روده قادر است به علت آرام شدن انتشار داروها به آرامی گسترش یابد (Wang et al., 2015).

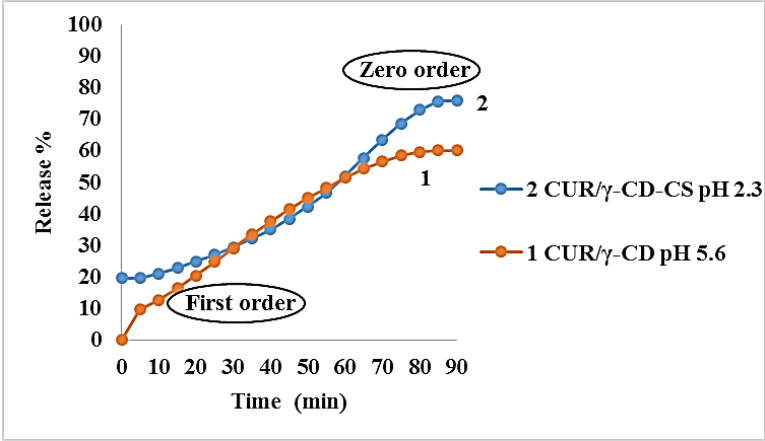
مطالعات سمیت برای سلول‌های سرطانی ریه A549 توسط CUR آزاد، کمپلکس‌های درهم‌جای با سیکلودکسترین‌ها و نانوذرات کمپلکس‌های اصلاح شده آن‌ها با نانوذرات CS نشان داد که نانوذرات کمپلکس‌های اصلاح شده دارو دارای سمیت کمتر و مطلوب‌تر از کمپلکس‌های CUR/CDs و CUR آزاد است (Mashhadi Akbar Boojar, 2019). به دلیل افزودن ترکیب زیستی نانوذرات CS به β- و γ-CD دارو به صورت اصلاح شده وجود دارد. به‌طور مشابه مطالعات سمیت سلولی در برابر سلول‌های A549 نشان می‌دهد که مقدار غلظت بارگذاری شده داروی CUR افزایش سمیت سلولی نیز به آهستگی کاهش یافته و متعادل می‌شود (Zhang et al., 2016). مقایسه مقادیر ضدسمیت در مولکول CUR در حالت آزاد و کمپلکس‌های متفاوت نشان می‌دهند که اتم اکسیژن گروه کربونیل CUR بیشترین قدرت برهم‌کنش نوکلئوفیلی را در حضور نانوذرات CS دارا است. بنابراین CUR در حضور نانوذرات CS بیشتر به مولکول‌های سیکلودکسترین وارد می‌شود که توانایی ضدسمیت نانوذرات کمپلکس‌های اصلاح شده را متعادل کرده است (Aadinath et al., 2016).



شکل ۷- آزمایش آزادسازی داروی CUR/β-CD توسط نانوذرات CS در pH = ۶/۷ و pH = ۳/۴.

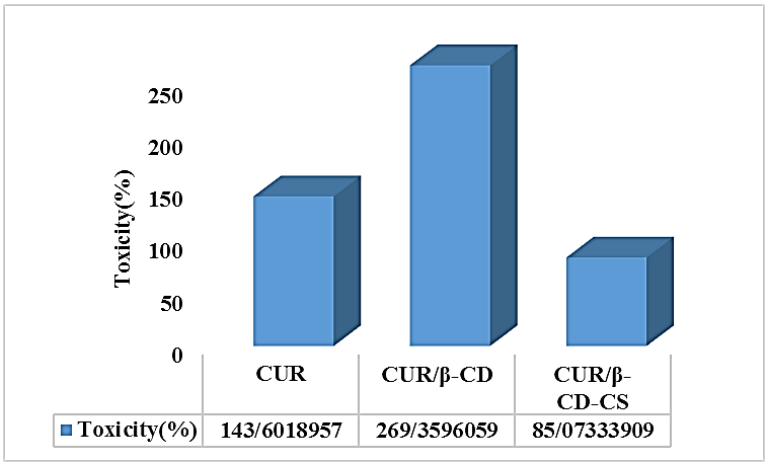
Figure 7. Test for release of CUR/β-CD drug by CS nanoparticles at pH = 6.7 and pH = 3.4.

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.3.4]
[DOI: 10.52547/nbr.8.2.84]



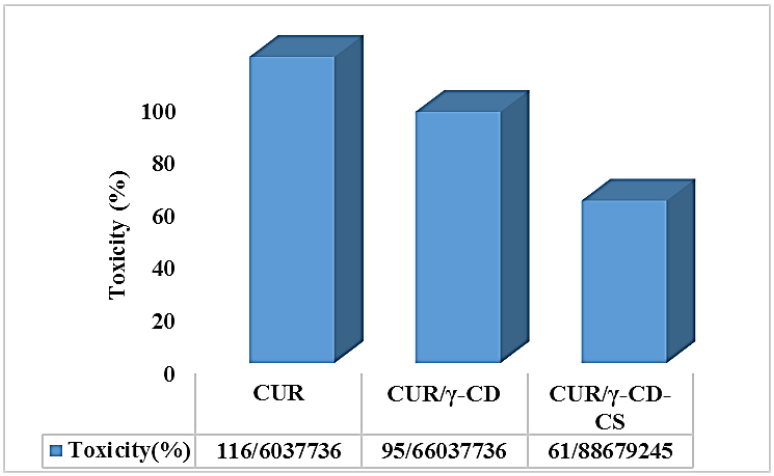
شکل ۸- آزمایش آزادسازی داروی CUR/γ-CD توسط نانوذرات CS در pH = ۵/۶ و pH = ۲/۳.

Figure 8. Test for release of CUR /γ-CD by CS nanoparticles at pH = 5.6 and pH = 2.3.



شکل ۹- بررسی خاصیت ضدسرطانی CUR، CUR/β-CD و CUR/β-CD-CS به روی سلول‌های A549 توسط آزمایش MTT.

Figure 9. Evaluation of anti-cancer properties of CUR, CUR/β-CD and CUR/β-CD-CS on A549 cells by MTT assay.



شکل ۱۰- بررسی خاصیت ضدسرطانی CUR، CUR/γ-CD و CUR/γ-CD-CS به روی سلول‌های A549 توسط آزمایش MTT.

Figure 10. Evaluation of anti-cancer properties of CUR, CUR/γ-CD and CUR /γ-CD-CS on A549 cells by MTT assay.

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.3.4]
[DOI: 10.52547/nbr.8.2.84]

نتیجه‌گیری

نانوذرات CS به واسطه پیوندهای هیدروژنی و برهم‌کنش‌های واندروالس هیدروژن گروه هیدروکسیل سیکلودکسترین‌ها با هیدروکسیل گروه فنولیک مولکول دارویی CUR تقویت پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند. در هر دو نانوذره کمپلکس‌های CUR با CD-CSها جهت انتقال بار از دارو به حامل و عامل درمانی است. نانوذرات CS کاربرد اصلاح‌کننده در تحویل هدفمند داروهای ضدسرطان را دارند. زیرا سطح بیرونی کاتیونی نانوذرات CS را می‌توان برای هدایت دارو به سمت سلول‌های هدف مورد استفاده قرار داد. بنابراین در نتایج اصلاح کمپلکس γ-CD با نانوذرات CS قوی‌ترین برهم‌کنش را با داروی کورکومین نشان می‌دهد. در نتیجه میزبان اصلاح شده نانوذرات γ-CD-CS به دلیل ایجاد حلالیت بیشتر و برهم‌کنش قوی آن بهترین میزبان به عنوان حامل و عامل درمانی برای داروی CUR است.

سپاسگزاری

از همکاری و حمایت گروه شیمی دانشکده علوم پایه دانشگاه گیلان و پردیس دانشگاهی دانشگاه گیلان تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

Aadinath, W., Anu, B. & Anandharamakrishnan, C. 2016. Synergistic radical scavenging potency of curcumin-in-β-cyclodextrin-in nanomagnetoliposomes. Materials Science and Engineering doi: 10.1016/j.msec.2016.03.095.

Anirudhan, H.S., Divya, N.L. & Nima, J. 2015. Synthesis and characterization of novel drug delivery system using modified chitosan based hydrogel grafted with cyclodextrin. Chemical Engineering Journal doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2015.09.05.

Ansari, M.J., Ahmed, M.M., Fatima, F., Anwer, M.K., Jamil, S., Al-Shdefat, R. & Be, A. 2014. Solubility and stability enhancement of curcumin through cyclodextrin complexation. International Journal of Biology Pharmacy and Allied Sciences 3: 2668-2675.

Berwin Singh, S.V. 2013. Water Soluble Complexes of curcumin and hydroxypropyl cyclodextrins: preparation and characterization. Medical Science and Technology 1: 1-61.

Chirio, D., Gallarate, M., Trotta, M., Eugenia Carlotti, M., Calcio Gaudino, E. & Cravotto, G. 2009. Influence of α- and γ- cyclodextrin lipophilic derivatives on curcumin-loaded SLN. Journal Inclusion Phenomena Macrocyclic Chemistry 65: 391-402.

Darandale, S.S. & Vavia, P.R. 2012. Cyclodextrin-based nanosponges of curcumin: formulation and physicochemical characterization. Journal Inclusion Phenomena Macrocyclic Chemistry 74: 145-151.

Dhule, S.S., Penfornis, P., Frazier, T., Walker, R., Feldman, J., Tan, G., He, J., Alb, A., John V. & Pochampally, R. 2012. Curcumin-loaded γ-cyclodextrin liposomal nanoparticles as delivery vehicles for osteosarcoma. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine 8: 440-451.

Dutta A.K. & Ikiki, E. 2013. Novel Drug Delivery Systems to Improve Bioavailability of Curcumin. Journal Bioequivalence & Bioavailability 6: 1-9.

Gautam, S. Karmakar, S., Bose, A. & Chowdhury, P.K. 2014. β-Cyclodextrin and curcumin a potent cocktail for disaggregating/inhibiting amyloids: A case study with α-synuclein. Biochemistry 4: 4081-4083.

Ghanghoria, R., Kesharwani, P., Bharat Agashe, H. & Jain, N.K. 2013. Transdermal delivery of cyclodextrin-solubilized curcumin. Drug Delivery and Transdermal Research 3: 272-285.

Jahed, V., Zarrabi, A., Bordbar, A. & Hafezi, M.S. 2014. NMR (1H, ROESY) spectroscopic and molecular modelling investigations of supramolecular complex of β-cyclodextrin and curcumin. Food Chemistry 165: 241-246.

Jantarat, Ch., Sirathanarun, P., Ratanapongsai, Sh., Watcharakan, P., Sunyapong, S. & Wadu, A. 2014. Curcumin-Hydroxypropyl-β-Cyclodextrin inclusion complex preparation methods: effect of common solvent evaporation, freeze drying, and pH shift on solubility and stability of curcumin. Journal of Pharmaceutical Research 13: 1215-1223.

Jinxia, L., Huizhi, Z., Yanyan, Y. & Shumao, S. 2016. Study of the inclusion complex and antioxidating activity of wogonin with β-cyclodextrin and

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.3.4]
[DOI: 10.52547/nbr.8.2.84]

hydroxypropyl-cyclodextrin. Journal Inclusion Phenomena Macrocyclic Chemistry 84: 115-120.

Kazemi, F., Zaraghami, N., Fekri aval, S. & Monfaredan, A. 2011. β-Cyclodextrin–curcumin complex inhibit telomerase gene expression in T47-D breast cancer cell line. African Journal Biotechnology 10: 19481-19488.

Khalil, S.K.H., El-Feky, G.S., El-Bannaa, S.T. & Khalil, W.A. 2012. Preparation and evaluation of warfarin-β-cyclodextrin loaded chitosan nanoparticles for transdermal delivery. Carbohydrate Polymers 90: 1244-1250.

Krishna Mohan, P.R., Sreelakshmi, G., Muraleedharan, C.V. & Joseph, R. 2012. Water soluble complexes of curcumin with cyclodextrins: Characterization by FT-Raman spectroscopy. Vibrational Spectroscopy 62: 77-84.

Ma, M., Sun, T., Xing, P., Li, Z., Li, S., Su, J., Chua, X. & Hao, A. 2014. A supramolecular curcumin vesicle and its application in controlling curcumin release. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2014.06.043.

Mangolim, C.S., Moriwaki, C., Nogueira, A.C., Sato, F., Baesso, M.L., Neto, A.M. & Matioli, G. 2014. Curcumin–β-cyclodextrin inclusion complex: Stability, solubility, characterisation by FT-IR, FT-Raman, X-ray diffraction and photoacoustic spectroscopy and food application. Food Chemistry 153: 361-370.

Mashhadi Akbar Boojar, M. 2019. A study on the targeting of ceramide metabolism by (-)-epicatechin gallate, catechin and quercetin in A-549 lung cancer cell line. Nova Biologica Reperta 6: 275-283.

Moussa, Z., Hmadeh, M., Abiad, M.G., Dib, O. & Patra, D. 2016. Encapsulation of curcumin in cyclodextrin-metal organic frameworks: Dissociation of loaded CD-MOFs enhances stability of curcumin. Food Chemistry 212: 485-494.

Paramera, E.I., Konteles, S.J. & Karathanos, V.T. 2011. Stability and release properties of curcumin encapsulated in saccharomyces cerevisiae β-cyclodextrin and modified starch. Food Chemistry 125: 913-922.

Popat, A. Karmakar, S., Jambhrunkar, S., Xu, C. & Yu, C. 2014. Curcumin-cyclodextrin encapsulated chitosan nanoconjugates with enhanced solubility and cell cytotoxicity. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 117: 520-527.

Rachmawati, H., Edityaningrum, C.A. & Mauludin, R. 2013. Molecular inclusion complex of curcumin–β-cyclodextrin nanoparticle to enhance curcumin skin permeability from hydrophilic matrix gel. AAPS Pharmaceutic Science Technology 14: 1303-1312.

Rocks, N., Bekaert, S., Coia, I., Paulissen, G., Gueders, M., Evrard, B., Van Heugen, J.C., Chiap, P., Foidart, J.M., Noel, A. & Cataldo, D. 2012. Curcumin–cyclodextrin complexes potentiate gemcitabine effects in an orthotopic mouse model of lung cancer. British Journal of Cancer 107: 1083-1092.

Szente, L., Mikuni, K., Hashimoto, H. & Szejtli, J. 1998. Stabilization and solubilization of lipophilic natural colorants with cyclodextrin. Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry 32: 81-89.

Vivek, R.Y., Sarasija, S., Kshama, D. & Seema, Y. 2009. Effect of cyclodextrin complexation of curcumin on its solubility and antiangiogenic and anti-inflammatory activity in rat colitis model. AAPS Pharmaceutic Science Technology 10: 752-762.

Wang, C., Huang, L., Song, S., Saif, B., Dong, Ch. & Shuang, S. 2015 Targeted delivery and pH-responsive release of stereoisomeric anti-cancer drugs using β-cyclodextrin assemblied Fe3O4 nanoparticles. Applied Surface Science. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.apsusc.2015.09.189.

Wu, J., Shen, Q. & Fang, L. 2013. Sulfobutylether-β-cyclodextrin/chitosan nanoparticles enhance the oral permeability and bioavailability of docetaxel. Drug Development and Industrial Pharmacy 39: 1010-1019.

Yallapu, M.M., Jaggi, M. & Chauhan, S.C. 2010. β-Cyclodextrin–curcumin self-assembly enhances curcumin delivery in prostate cancer cells. Colloids Surf B: Biointerfaces 79: 113-125.

Zaibunnisa, A.H., Norashikin, S., Mamot, S. & Osman, H. 2009. Stability of curcumin in turmeric oleoresin-β-cyclodextrin inclusion complex during storage. Malaysian Journal of Analytical Sciences 13: 165-169.

Zhang, L., Man, Sh., Qiu, H., Liu, Zh., Zhang, M., Ma, L. & Gao, W. 2016. Curcumin-cyclodextrin complexes enhanced the anti-cancer effects of curcumin. Environmental Toxicology and Pharmacology. doi: http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.etap.2016.09.021.

*****

How to cite this article:

Alizadeh, N. & Malakzadeh, Sh. 2021. Evaluation of antioxidant and anti-cancer properties of curcumin / beta- and gamma-cyclodextrin complexes modified with chitosan nanoparticles on lung cancer cell A549. Nova Biologica Reperta 8: 84-94. (In Persian).

علیزاده، ن. و ملک‌زاده، ش. ۱۴۰۰. بررسی خواص آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی کمپلکس های کورکومین/ بتا- و گاما-سیکلودکسترین اصلاح شده با نانو ذرات کیتوزان بر روی رده سلولی سرطان ریه A549. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۸: ۹۴-۸۴.

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2026-11-03]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.2.3.4]
[DOI: 10.52547/nbr.8.2.84]