

## بررسی خواص آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی کمپلکس‌های کورکومین / بتا- و گاما-

## A549 سیکلودکسترین اصلاح شده با نانوذرات کیتوزان بر روی رده سلولی سرطان ریه

نینا علیزاده<sup>۱,۲</sup> و شکوفه ملکزاده<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه شیمی تجزیه، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران؛ <sup>۲</sup> 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 برهمنش اصلاح مولکول کمپلکس کورکومین (CUR) در حامل‌های بتا- و گاما- سیکلودکسترین ( $\beta$ -CD و  $\gamma$ -CD) با نانوذرات کیتوزان (CS) (جهت داروسانی هدفمند و مقایسه کارکرد بین آن‌ها بود. سیستم تحويل 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 پلی‌ساکارید آن را قادر می‌سازد تا پیوند ثابت کوالانسی را با کمپلکس‌ها ایجاد کند و زمینه حلالیت سیکلودکسترین را افزایش دهد. نانوذرات CS به واسطه پیوند های هیدروژنی و برهمنش‌های واندروالس هیدروکسیل گروه هیدروکسیل گروه فنولیک مولکول دارویی CUR تقویت پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند. اصلاح کمپلکس  $\gamma$ -CD با CS قوی ترین برهمنش را با CUR نشان می‌دهد. هر دوی کمپلکس‌های CUR در سیستم میزان  $\beta$ -CD- هیدروژنی برقرار می‌کند. اصلاح کمپلکس  $\gamma$ -CD با CS خاصیت سیستم‌های تحويل هدفمند داروهای ضد سرطان را دارند. زیرا میدان خارجی CS جهت انتقال بار از دارو به حامل و عامل درمانی است. نانوذرات CS خاصیت سیستم‌های تحويل 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 میزان  $\gamma$ -CD-CS به دلیل حلالیت زیاد و برهمنش قوی آن بهترین میزان 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<sup>1,2</sup> & Shokufeh Malakzadeh<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Guilan, P.B. 41335-1914, Rasht, Iran; <sup>2</sup>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 ( $\beta$ -CD and  $\gamma$ -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  $\gamma$ -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

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  $\gamma$ -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

است. در سال‌های گذشته اثر ضدجهش آن بر روی سلول‌های سرطانی بررسی شدند. کمپلکس‌های بتا-و گاما-سیکلودکستربین  $\gamma$ -CD و  $\beta$ -CD با CUR را به کمک حل کردن در حلال و روش محلول‌سازی سنتز کردند. نشان داده شد که نسبت مولی CUR به  $\beta$ -CD و CUR به  $\gamma$ -CD یک به یک است (Paramera et al., 2011). این پیوندهای هیدروژنی محکم Dutta & Ikiki (2013) نسبت مولی CUR به سیکلودکستربین‌ها 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 سیکلودکستربین‌ها 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 دارورسان نامیده می‌شوند (Jahed et al., 2014; Mangolim et al., 2014). کیتوزان (CS) با فرمول شیمیایی ( $C_6H_{11}NO_4$ ) از استیل زدایی کیتینین به دست می‌آید که به دلیل غیررسمی بودن، خاصیت جذب بالا، امکان تجزیه در طبیعت، سازگاری با محیط زیست، مقرر 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 استیل زدایی، جرم مولکولی، کریستالیته، بار یونی گروه‌های عاملی (Gautam et al., 2014). پلی‌ساقارید کاتیونی CS با حضور عامل‌های آمینو و الكل در طول زنجیره‌های پلی‌ساقارید آن را قادر می‌سازد تا پیوند ثابت کووالانسی را با کمپلکس‌ها ایجاد کند و زمینه حلایت سیکلودکستربین را افزایش دهد (Popat et al., 2014; Ansari et al., 2014). نانوذرات پلی‌ساقاریدی CS همراه با کمپلکس‌های درونی CUR/سیکلودکستربین‌ها جهت به دست آوردن نانوذرات ماندگار و با پایداری بالا با روش‌های محلول‌سازی زمان ممکن نگهداری طولانی‌تری خواهد داشت (Anirudhan et al., 2016; Wang et al., 2015).

در این تحقیق برهم‌کنش‌های بین حامل‌های دارویی میزبان سیکلودکستربین با مولکول مهمان CUR

## مقدمه

بررسی ساختارهای دارویی زیادی با کمک علم شیمی تاکنون صورت گرفته است که بیش از نیمی از این ساختارهای در آب کم محلول هستند. فرموله کردن این ساختارهای کم محلول در آب به دلیل سرعت اتحال 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 علاوه بر 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 پراکنده‌گی مایعات از وارد کردن دارو در حامل‌هایی بزرگ مانند سیکلودکستربین‌ها 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 (Beric et al., 2013) هیدروکسی-۳-متوكسی 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، ضدالتاهی و ضدمیکروبی گزارش شده است (Wu et al., 2013). فعالیت بهطور عمده CUR خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن است که به گروه هیدروکسیل 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 آن جایی که CUR خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌توموری دارد (Ghanghoria et al., 2013).

به عنوان یک داروی ضدجهش ژئنیتیکی مورد توجه قرار گرفته

دارورسانی با نانوذرات CS در آزادسازی دارو حساس به pH برای مطالعه دارورسانی 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):

$$\text{آزادسازی \%} = \frac{\text{OD}_1 / \text{OD}_2 \times 100}{\text{رابطه سه}} = \text{آزادسازی \%}$$

جایی که  $\text{OD}_1 = \text{جذب CUR آزاد}$  و  $\text{OD}_2 = \text{جذب CUR در کمپلکس سیکلودکسترین}$  یا کمپلکس حاوی سیکلودکسترین-نانوذرات CS است. مقادیر جذب برای هر ۵ دقیقه در طول موج ماکریم CUR ۴۱۸ nm انداخته شده است (Popat et al., 2014).

#### CUR/CDs-CS خاصیت ضدسرطانی

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 nm انداخته شده با استفاده از یک میکروپلاستی خوان Bio-Rad 680 USA (Model Mashhadi Akbar (Boojar, 2019

$$\text{سمیت \%} = \frac{\text{ OD}_0 / \text{OD}_1 \times 100}{\text{رابطه چهار}} = \text{سمیت \%}$$

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/СИКЛОДКСТРИН-نانوذرات CS بررسی شدند. تغییرات جذب برای نشان دادن جهت انتقال الکترون بین CUR/β-CD-CS و CUR/γ-CD-CS تشكیل 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 ۱ درصد محلول در اسیداستیک برای افزایش پیوندهای هیدروژنی مولکول‌های میزان-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.

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

#### مواد و روش‌ها

##### Tehvihie نانوذرات کمپلکس‌های CUR/CDs-CS

ابتدا کمپلکس‌های کورکومین (CUR) متابولیک با غلظت ۰/۰۶ میلی‌مolar در حامل‌های بتا- و گاما- سیکلودکسترین (- $\beta$ -CD و  $\gamma$ -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 nm (nm) است (Darandale & Vavia, 2012). جایه‌جایی پیک CUR از پیک ماکریم ۴۱۸ nm به پیک‌های ۴۲۴ nm و ۴۲۳ nm در اثر تشكیل کمپلکس‌های اصلاح شده به ترتیب CUR/ $\beta$ -CD-CS و CUR/ $\gamma$ -CD-CS نسبت داده می‌شود. طول موج قطع شده از طیف ۵۵۰ nm بود. انرژی شکاف تشكیل کمپلکس نانوذره بر Krishna Mohan (et al., 2012) اساس معادله انرژی انبیشن محاسبه شد.

$$\text{رابطه یک} = h.c / \lambda$$

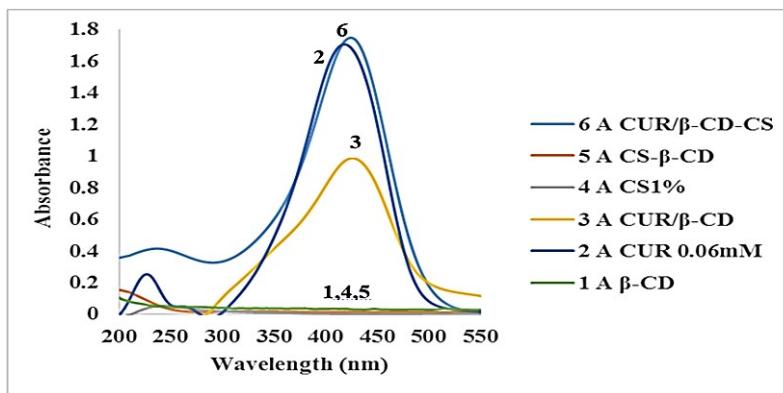
Eg = انرژی باند شکاف، h ثابت ثابت، c سرعت نور و  $\lambda$  طول موج قطع شده به دست آمده از طیف کمپلکس اصلاح شده با نانوذرات است.

##### خاصیت آنتی‌اکسیدانی CUR/CDs-CS

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

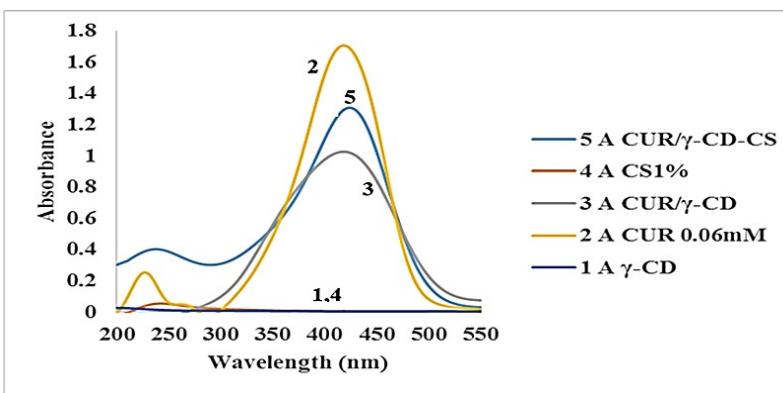
$$\text{AU} = \frac{(A_0 - A_s)}{A_0} \times 100$$

AU 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).



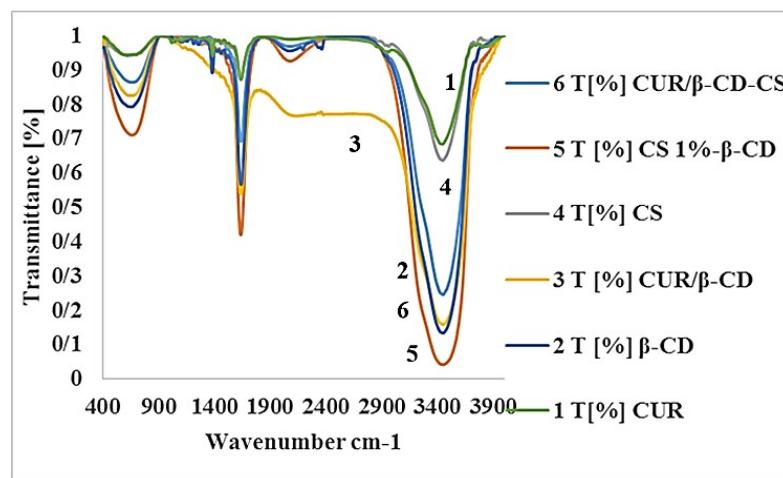
شکل ۱- طیف‌های جذب UV-vis برای  $\beta$ -CD خالص، CUR/ $\beta$ -CD، CUR آزاد در ۴۱۸ nm، کمپلکس CS- $\beta$ -CD، CUR/beta-CD-CS اصلاح شده در ۴۲۴ nm.

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



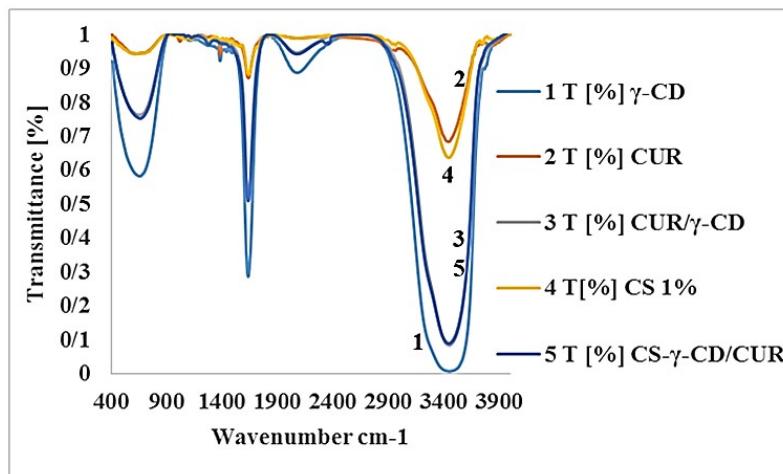
شکل ۲- طیف‌های جذب UV-vis  $\gamma$ -CD خالص، CUR آزاد در ۴۱۸ nm، کمپلکس CUR/ $\gamma$ -CD، CUR/ $\gamma$ -CD-CS اصلاح شده در ۴۲۳ nm.

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



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

**Figure 3.** FTIR spectra for free CUR, pure  $\beta$ -CD, CUR/ $\beta$ -CD complex, pure CS,  $\beta$ -CD-CS and CUR/ $\beta$ -CD-CS modified complex.



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

**Figure 4.** FTIR spectra for pure  $\gamma$ -CD, free CUR, pure CUR/ $\gamma$ -CD complex, pure CS1% and pure CS CUR/ $\gamma$ -CD-CS modified complex.

جدول ۱- مقایسه بین شدت CUR/ $\beta$ -CD-CS و CUR/ $\beta$ -CD

**Table 1.** Comparison between CUR / $\beta$ -CD and CUR/ $\beta$ -CD-CS intensities.

گروه عاملی	عدد موج (cm <sup>-1</sup> )		تغییرات $\Delta\delta$
	CUR/ $\beta$ -CD	CUR/ $\beta$ -CD-CS	
v[OH]	۳۴۴۶/۵۵	۳۴۴۵/۷۱	-۰/۸۴
v[O-H]	۱۶۳۸/۱۹	۱۶۴۶/۰۱	+۷/۸۲
v[=C-H]	۶۵۵/۴۰	۶۲۳/۵۳	-۳۱/۸۷

جدول ۲- مقایسه بین شدت CUR و CUR/ $\beta$ -CD-CS

**Table 2.** Comparison between CUR and CUR / $\beta$ -CD-CS intensities.

گروه عاملی	عدد موج (cm <sup>-1</sup> )		تغییرات $\Delta\delta$
	CUR	CUR/ $\beta$ -CD-CS	
v[OH]	۳۴۴۲/۹۴	۳۴۴۵/۷۱	+۷/۷۷
v[O-H]	۱۶۳۸/۲۵	۱۶۴۶/۰۱	+۷/۷۶
v[=C-H]	۶۳۴/۴۵	۶۲۳/۵۳	-۱۰/۹۲

جدول ۳- مقایسه بین شدت CUR/ $\gamma$ -CD-CS و CUR/ $\gamma$ -CD

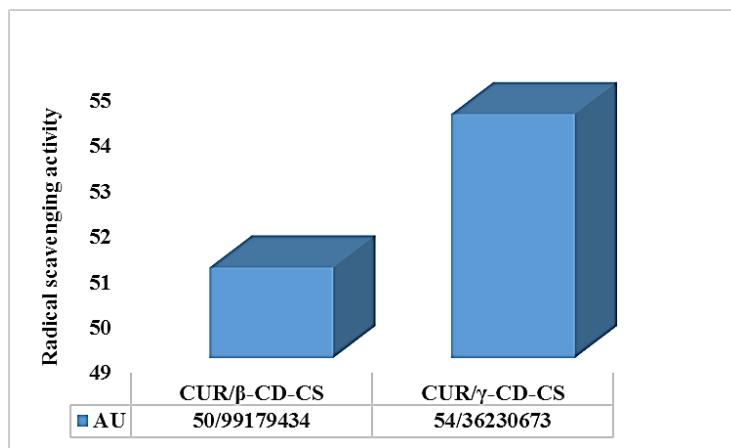
**Table 3.** Comparison between CUR / $\gamma$ -CD and CUR / $\gamma$ -CD-CS intensities.

گروه عاملی	عدد موج (cm <sup>-1</sup> )		تغییرات $\Delta\delta$
	CUR/ $\gamma$ -CD	CUR/ $\gamma$ -CD-CS	
v[OH]	۳۴۴۷/۷۲	۳۴۴۶/۳۱	-۱/۴۱
v[O-H]	۱۶۳۶/۷۱	۱۶۳۶/۵۰	-۰/۲۱
v[=C-H]	۶۶۲/۷۹	۶۶۷/۹۷	+۵/۱۸

**جدول ۴- مقایسه بین شدت CUR و CUR/ $\gamma$ -CD-CS**

**Table 4.** Comparison between CUR and CUR/ $\gamma$ -CD-CS intensities.

گروه عاملی	عدد موج ( $\text{cm}^{-1}$ )		$\Delta\delta$ تغییرات
	CUR	CUR/ $\gamma$ -CD-CS	
v[OH] متقارن و نامتقارن	۳۴۴۲/۹۴	۳۴۴۶/۳۱	+۲/۳۷
v[O-H] ارتعاش خمثی	۱۶۳۸/۲۵	۱۶۳۶/۵۰	-۱/۷۵
v[=C-H] اسکلتی و آروماتیک	۶۳۴/۴۵	۶۶۷/۹۷	+۳۳/۵۲

شکل ۵- طیف‌های UV-vis اثر کمپلکس‌های CUR/ $\gamma$ -CD-CS و CUR/β-CD-CS بر روی رادیکال DPPH<sup>·</sup>**Figure 5.** UV-vis spectra Effect of CUR/β-CD-CS and CUR/ $\gamma$ -CD-CS complexes on DPPH<sup>·</sup> radical.شکل ۶- نمودار سرعت حذف DPPH<sup>·</sup> توسط کمپلکس‌های CUR/ $\gamma$ -CD-CS و CUR/β-CD-CS**Figure 6.** DPPH<sup>·</sup> removal rate diagram by CUR/β-CD-CS and CUR/ $\gamma$ -CD-CS complexes.

کمپلکس‌ها دارای برهم‌کنش‌هایی از نوع پیوند هیدروژنی هستند. درنتیجه کلیه برهم‌کنش‌های CUR با حلقه سیکلودکستربن در حضور نانوذره کاتیونی CS محکم‌تر است ( Dutta & Ikiki, 2013).

خاصیت آنتی اکسیدانی نانوذرات کمپلکس‌های CUR/CDs-CS خوب است. جهت تعیین میزان پایداری خاصیت آنتی اکسیدانی دارو کمپلکس شده تاثیر کمپلکس‌های اصلاح شده CUR/β-CD- CS و CUR/ $\gamma$ -CD-CS بر DPPH<sup>·</sup> در شکل‌های ۵ و ۶ نشان داده شده است. مقایسه کاربرد آنتی اکسیدانی داروی CUR با کمپلکس‌های CUR/ $\gamma$ -CD، CUR/β-CD، CUR/γ-CD، کمپلکس‌های

جدول‌های ۱ تا ۴ به صورت کیفی مقایسه شدت جذب‌ها را بهمنظور مشخص کردن برهم‌کنش‌های درون مولکولی بین CUR/سیکلودکستربن‌ها و نانوذرات CS نشان می‌دهند. برای تعیین تغییر CUR آزاد و پایداری همراه با نامستقر بودن الکترون بین دهنده و پذیرنده به کار می‌رود ( Berwin Singh, 2013). پایداری حاصل از تشکیل کمپلکس دوتایی سیکلودکستربن‌ها با کورکومین از برهم‌کنش بارهای منفی به دست آمده بود ( Vivek et al., 2009). میزان پایداری حاصل از تشکیل کمپلکس اصلاح شده CUR با سیکلودکستربن‌ها در حضور نانوذره کاتیونی CS بیشتر است. بنابراین همه نانوذرات

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 برهمنش 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 ماقریم بوده و به عنوان 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 و نانوذرات CS انجام می‌شود. برهم‌کنش ناشی از جفت الکترون ناپیوندی اکسیژن در کمپلکس که γ-CD-CS و CUR/β-CD-CS است CUR بزرگ‌تر از کمپلکس در هم‌جای CUR/Ghanghoria et al., 2013) میزان انتقال بار از داروی به میزان 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 حللاً بهمنظور وارد کردن داروی CUR در حامل‌هایی بزرگ مانند سیکلودکسترین‌ها استفاده شده است. چون دارویانی 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 میزان سیکلودکسترین‌ها ابتدا سینتیک

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/γ-CD-CS و CUR/β-CD-CS به ترتیب ۵۰/۹۹ درصد و ۳۶/۵۴ درصد نزدیک‌تر به مقدار مطلوب IC50 محاسبه شدند (Mangolim et al., 2014).

دارویسانی با نانوذرات CS در آزادسازی دارو حساس به pH در شکل‌های ۷ و ۸ سرعت آزادسازی کمپلکس‌های CUR/Sیکلودکسترین‌ها 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).

**CUR/CDS-CS** 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 اینمی 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 برای درمان سلول CUR/γ-CD-CS مناسب‌ترین نانوذره کمپلکس 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).

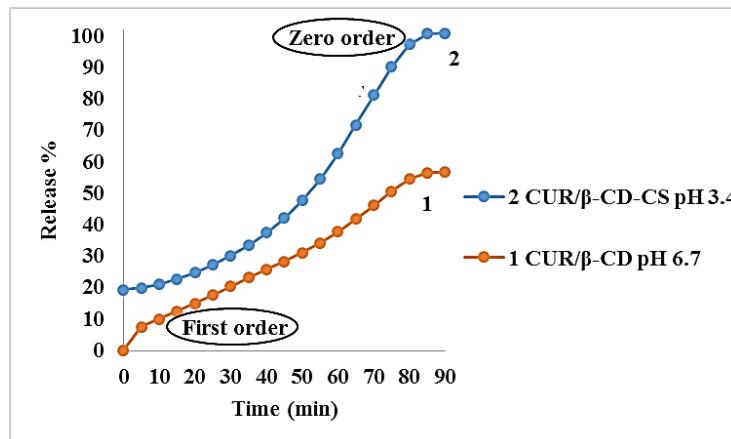
## بحث

تغییرات جذب نانوذره کمپلکس اصلاح شده CUR/γ-CD-CS بیشتر از نانوذره کمپلکس اصلاح شده است که نشان‌دهنده برهم‌کنش محکم‌تر در نانوذره کمپلکس اصلاح شده CUR بهوسیله پیوند قوی‌تر CD-γ با نانوذرات CS است (Rocks et al., 2012). بنابراین برهم‌کنش‌های هیدروژنی بین CUR و سیکلودکسترین در نانوذره کمپلکس γ-CUR/CD-CS بیشتر از نانوذره کمپلکس شده CUR/β-CD-CS است. انرژی شکاف‌های هر دو نانوذره کمپلکس براساس (رابطه CS ۲/۹۳ ev) محاسبه شد که نشان‌دهنده اثر نانوذرات 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

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

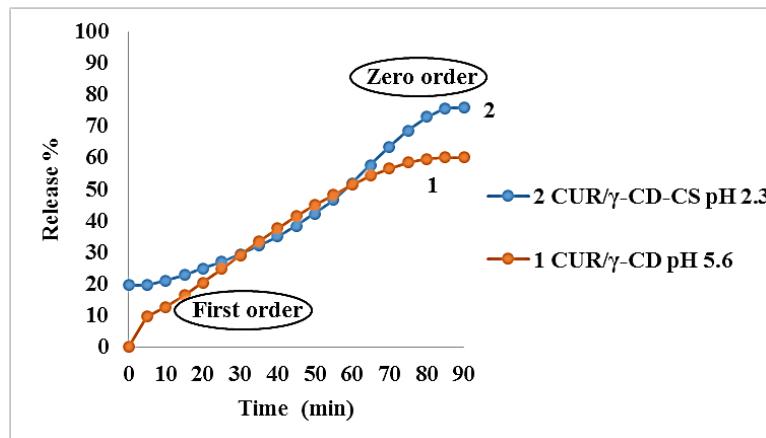
مطالعات سمتی برای سلول‌های سرطانی ریه A549 توسط CUR آزاد، کمپلکس‌های درهم‌جای با سیکلودکسترین‌ها و نانوذرات کمپلکس‌های اصلاح شده آن‌ها با نانوذرات CS نشان داد که نانوذرات کمپلکس‌های اصلاح شده دارو دارای سمتی کمتر و مطلوب‌تر از کمپلکس‌های CUR/CDs و CUR آزاد است (Mashhadi Akbar Boojar, 2019). به دلیل افودن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

مرتبه یک را دنبال می‌کنند. اما بعد از ۴۵ دقیقه سینتیک مرتبه CUR/β-CD-CS حدود ۸۸ درصد دارو پس از ۹۰ دقیقه آزاد می‌شود و  $pH = ۲/۳$  ناشی از برهم‌کش هیدروژنی قوی  $\gamma$ -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 ۵۵-۷۵ 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 مطروب از نانوذرات CS و عملکرد سطح با سیکلودکسترین‌ها برای دارورسانی داروهای نامحلول با بارگیری داروها توسط نانوذرات CS بالاتر است (Anirudhan et al., 2015). نانوذرات زیست سازگار pH متعلق به CD‌ها برای اصلاح هیدروفویلی بودن CUR و CS آن موجب دارورسانی مداوم دارو در زیست پزشکی شدند. کاهش pH در تحويل دارو با استفاده از نانوذرات CS کارکردی به علت پوشش در اطراف CUR با سیکلودکسترین موجب ایجاد کمپلکس شدن بیشتر داروی آزاد شد. زمان تاثیر دارو به صورت نانوذره کمپلکس اصلاح شده بیشتر و پایداری آن مطلوب می‌شود.

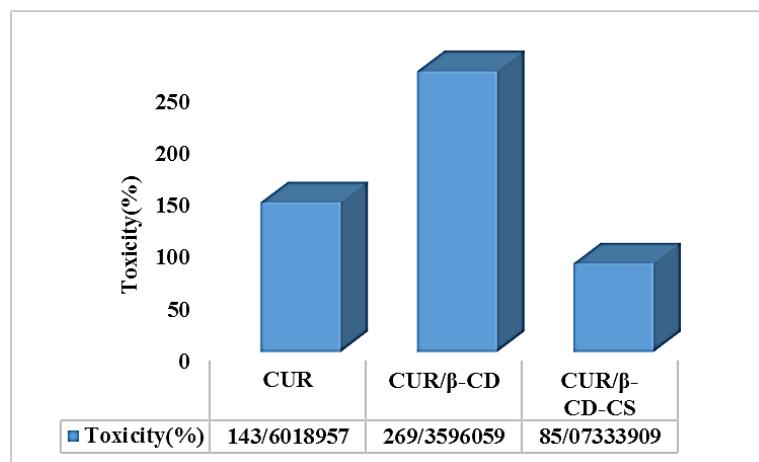


شکل ۷- آزمایش آزادسازی داروی CUR/β-CD توسط نانوذرات CS در pH = ۶/۷ و pH = ۳/۴

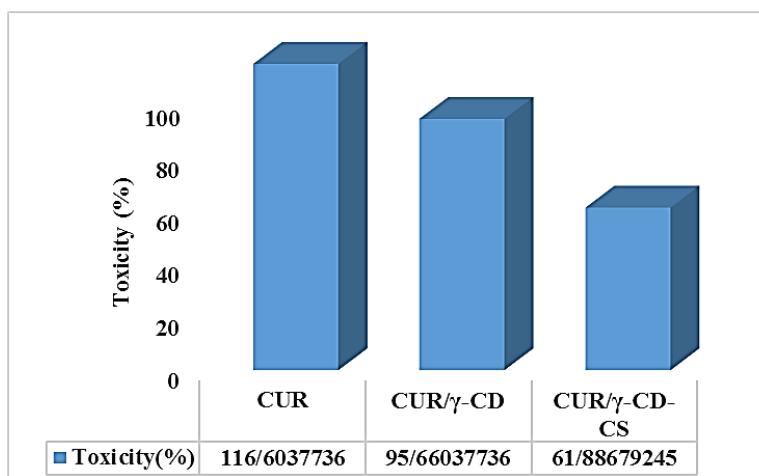
Figure 7. Test for release of CUR/β-CD drug by CS nanoparticles at pH = 6.7 and pH = 3.4.



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 / $\gamma$ -CD by CS nanoparticles at pH = 5.6 and pH = 2.3.

شکل ۹- بررسی خاصیت ضدسرطانی CUR/β-CD-CS و CUR/β-CD .CUR 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/γ-CD-CS و CUR/γ-CD .CUR 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.

## REFERENCES

- Aadinath, W., Anu, B. & Anandharamakrishnan, C.** 2016. Synergistic radical scavenging potency of curcumin-in- $\beta$ -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  $\alpha$ - and  $\gamma$ - cyclodextrin lipophilic derivatives on curcumin-loaded SLN. Journal Inclusion Phenomena Macroyclic Chemistry 65: 391-402.
- Darandale, S.S. & Vavia, P.R.** 2012. Cyclodextrin-based nanosplices of curcumin: formulation and physicochemical characterization. Journal Inclusion Phenomena Macroyclic 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  $\gamma$ -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.  $\beta$ -Cyclodextrin and curcumin a potent cocktail for disaggregating/inhibiting amyloids: A case study with  $\alpha$ -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 ( $^1\text{H}$ , ROESY) spectroscopic and molecular modelling investigations of supramolecular complex of  $\beta$ -cyclodextrin and curcumin. Food Chemistry 165: 241-246.
- Jantarat, Ch., Sirathanarun, P., Ratanapongsai, Sh., Watcharakarn, P., Sunyapong, S. & Wadu, A.** 2014. Curcumin-Hydroxypropyl- $\beta$ -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 antioxidant activity of wogonin with  $\beta$ -cyclodextrin and

## نتیجه‌گیری

نانوذرات CS به واسطه پیوندهای هیدروژنی و برهمنش‌های واندروالس هیدروژن گروه هیدروکسیل سیکلودکسترن‌ها با هیدروکسیل گروه فنولیک مولکول دارویی CUR تقویت پیوند CUR هیدروژنی برقرار می‌کند. در هر دو نانوذره کمپلکس‌های CUR با CD-CS ها جهت انتقال بار از دارو به حامل و عامل درمانی است. نانوذرات CS کاربرد اصلاح‌کننده در تحويل 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  $\gamma$ -CD با نانوذرات CS قوی‌ترین برهمنش را با داروی کورکومین نشان می‌دهد. در نتیجه میزان اصلاح شده نانوذرات  $\gamma$ -CD-CS به دلیل ایجاد حلalیت بیشتر و برهمنش قوی آن بهترین میزان 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.

- hydroxypropyl-cyclodextrin. *Journal Inclusion Phenomena Macrocyclic Chemistry* 84: 115-120.
- Kazemi, F., Zaraghami, N., Fekri aval, S. & Monfaredan, A.** 2011.  $\beta$ -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- $\beta$ -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- $\beta$ -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., Kontoles, S.J. & Karathanos, V.T.** 2011. Stability and release properties of curcumin encapsulated in *Saccharomyces cerevisiae*  $\beta$ -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- $\beta$ -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  $\beta$ -cyclodextrin assembled 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- $\beta$ -cyclodextrin/chitosan nanoparticles enhance the oral permeability and bioavailability of docetaxel. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 39: 1010-1019.
- Yallappu, M.M., Jaggi, M. & Chauhan, S.C.** 2010.  $\beta$ -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- $\beta$ -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 نانوذرات کیتوزان بر روی رده سلولی سرطان ریه A549. *یافته‌های نوین در علوم زیستی* ۸: ۸۴-۹۴.