SJKUMS
Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences
No.5/ Nov-Dec 2026;31(5): 530-541
DOI: 10.22034/31.5.530
https://sjku.muk.ac.ir



Original Article

Investigation of the Role of Cellulose Nanocrystal Concentration in the Development of Poly vinyl alcohol/Bovine Serum Albumin Hydrogel Nanocomposites Reinforced with Polyethylene Glycol and Folic Acid for Quercetin Delivery to MCF-7 Breast Cancer Cells

Ghazaleh Mousazadeh[1], Hashem Yaghoubi[2*], Mehran Noruzpour[3]

1. MSC. Student, Department of Biology, Ard.C., Islamic Azad University, Ardabil, Iran
2. Associate Professor, Department of Biology, Ard.C., Islamic Azad University, Ardabil, Iran
3. Instructor, Department of Biotechnology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Article history:
Received: December 10, 2025
Revised: September 19, 2026
Accepted: September 28, 2026

***Corresponding author:** Hashem Yaghoubi, Associate Professor, Department of Biology, Ard.C., Islamic Azad University, Ardabil, Iran

E-mail: yaghoubi_h@iau.ac.ir

Abstract

Background and Aims: Nanotechnology offers promising approaches to improve drug and bioactive compound delivery to cancer cells. In this study, a nanocarrier system based on cellulose nanocrystals (CNCs) and a Bovine Serum Albumin (BSA)-Polyvinyl Alcohol (PVA) hydrogel modified with Polyethylene glycol and folic acid was designed for the delivery of quercetin to MCF-7 breast cancer cells.

Materials and Methods: Following nanoparticle synthesis, their physicochemical properties were characterized using Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) and dynamic light scattering (DLS). Following the loading of the quercetin drug into the resulting nanocapsules, the effect of different concentrations of cellulose NCRs in the synthesized nanocapsules on drug release at different pH levels over time was examined. Finally, cellular toxicity (in both cancerous and healthy cells) was assessed using the MTT assay.

Results: FTIR analysis confirmed the successful formation of BSA-PVA-Cel (with cellulose NCR concentrations of 50, 100, and 200 mg) and the presence of functional groups from their constituent components. DLS results indicated that increasing the CNC concentration from 50 to 200 mg increased the particle size of Cel-Que from 322 ± 7.14 nm to 363 ± 3.21 nm, while the zeta potential decreased to -30.6 ± 14.72 mV. The drug-release pattern at different pH levels demonstrated that quercetin release from BPCQPF NCs depends significantly on pH, cellulose nanocrystal concentration, and time. Quercetin-loaded nanocapsules (BPCQPF) significantly enhanced cytotoxicity compared to drug-free carriers (BPCPF).

Conclusion: Smart BPCQPF nanocapsules, through pH-responsive release, enhance quercetin's anticancer effect on MCF-7 cells and reduce its side effects.

Keywords: Cellulose, Drug delivery systems, MCF-7 Cells, Quercetin, Serum albumin

Please cite this article as follows: Mousazadeh GH, Yaghoubi H, Noruzpour M. Investigation of the Role of Cellulose Nanocrystal Concentration in the Development of Poly vinyl alcohol/Bovine Serum Albumin Hydrogel Nanocomposites Reinforced with Polyethylene Glycol and Folic Acid for Quercetin Delivery to MCF-7 Breast Cancer Cells. SJKUMS. 2026;31(5):530-541. DOI: 10.22034/31.5.530

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17]

Copyright © 2026 Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cite

SJKUMS
مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان
دوره ۳۱، شماره ۵ ، آذر و دی ۱۴۰۵، صفحات: ۵۳۰-۵۴۱
DOI: 10.22034/31.5.530
https://sjku.muk.ac.ir



مقاله پژوهشی اصیل

بررسی نقش غلظت نانوکریستال‌های سلولزی در توسعهٔ نانوکامپوزیت هیدروژلی پلی‌وینیل الکل/آلبومین سرم گاوی تقویت‌شده با پلی‌اتیلن گلیکول و فولیک‌اسید برای انتقال کوئرستین به سلول‌های سرطان پستان MCF-7

غزاله موسی‌زاده[۱]، هاشم یعقوبی[۲*]، مهران نوروزپور[۳]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، واحد اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی، اردبیل، ایران
۲. دانشیار، گروه زیست‌شناسی، واحد اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی، اردبیل، ایران
۳. مربی، گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۱۹
ویرایش: ۱۴۰۵/۰۶/۲۸
پذیرش: ۱۴۰۵/۰۷/۰۶

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی کردستان محفوظ است.

*نویسنده مسئول: هاشم یعقوبی، دانشیار، گروه زیست‌شناسی، واحد اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی، اردبیل، ایران

ایمیل: yaghoubi_h@iau.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: نانوتکنولوژی چالش انتقال داروها و اسیدهای نوکلئیک به سلول‌های سرطانی را مرتفع کرده است. در این مطالعه، سیستم نانوحامل هوشمند بر پایهٔ نانوکریستال‌های سلولزی و هیدروژل آلبومین سرم گاوی (BSA)، پلی‌وینیل‌الکل (PVA) تقویت‌شده با پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) و لیگاند فولیک‌اسید برای انتقال کوئرستین به سلول‌های سرطان پستان MCF-7 طراحی شد.

مواد و روش‌ها: پس از سنتز نانوذرات، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن‌ها با استفاده از طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) و پراکندگی نور پویا (DLS) بررسی شد. پس از بارگذاری داروی کوئرستین در نانوکپسول‌های حاصل، تأثیر غلظت‌های مختلف نانوکریستال‌های سلولزی در نانوکپسول‌های سنتزشده در رهایش دارو در pHهای مختلف برحسب زمان بررسی شد. در ادامه، سمیت سلولی (روی سلول‌های سرطانی و سالم) به کمک آزمون MTT بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج FTIR تشکیل نانوکپسول‌های BSA-PVA-Cel (با غلظت‌های متفاوت ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg نانوکریستال سلولزی) و حضور گروه‌های عاملی آن را تأیید کرد. نتایج حاصل از DLS نیز نشان داد که با افزایش غلظت نانوکریستال‌های سلولزی از ۵۰ mg به ۲۰۰ mg، اندازهٔ نانوذرات Cel-Que از ۳۲۲±۱۴/۷ nm به ۳۶۳±۲۱/۳ nm افزایش یافته است و پتانسیل زتا را تا ۳۰/۶±۱۴/۷۲ mV- کاهش داد. الگوی رهایش کوئرستین از نانوکپسول‌های BPCQPF به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) تحت‌تأثیر نوع pH، مقدار نانوکریستال سلولزی و زمان قرار گرفت. همچنین، نانوکپسول‌های حاوی کوئرستین در مقایسه با حامل‌های فاقد دارو، کاهش بیشتر و معنی‌داری ($P<0/05$) در زنده‌مانی سلولی ایجاد کردند.

نتیجه‌گیری: نانوکپسول‌های هوشمند BPCQPF با رهایش pHمحور، اثر ضدسرطانی کوئرستین را در سلول‌های MCF-7 افزایش و عوارض جانبی آن را کاهش می‌دهند.

واژگان کلیدی: آلبومین سرم، سامانه‌های دارورسانی، سلولز، سلول‌های MCF-7 ، کوئرستین

استناد: موسی‌زاده، غزاله؛ یعقوبی، هاشم؛ نوروزپور، مهران. بررسی نقش غلظت نانوکریستال‌های سلولزی در توسعهٔ نانوکامپوزیت هیدروژلی پلی‌وینیل‌الکل/آلبومین سرم گاوی تقویت‌شده با پلی‌اتیلن گلیکول و فولیک‌اسید برای انتقال کوئرستین به سلول‌های سرطان پستان MCF-7 . مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان، آذر و دی ۱۴۰۵؛۳۱(۵): ۵۳۰-۵۴۱.

مقدمه

سرطان پستان از مهم‌ترین چالش‌های سلامت جهانی به شمار می‌رود و به‌عنوان دومین عامل اصلی مرگ‌ومیر در سراسر جهان شناخته می‌شود [۱]. درحال‌حاضر، پرکاربردترین راهبردهای درمانی برای درمان سرطان پستان شامل جراحی، پرتودرمانی، شیمی‌درمانی و هورمون‌درمانی است [۲]. شیمی‌درمانی به‌عنوان درمان سیستمیک، اختصاصیت لازم را ندارد و به سلول‌های سالم با تقسیم سریع نیز آسیب می‌رساند. این چالش‌ها مسیر را برای ظهور و توسعهٔ روش‌های درمانی نوین

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17]

هموار کرده است [۳]. در این میان، نانوتکنولوژی به‌عنوان راهبرد تحول‌آفرین، ظرفیت فوق‌العاده‌ای برای غلبه بر این موانع از خود نشان داده است. در این روش، با بهره‌گیری از نانوحامل‌های هوشمند می‌توان عوامل درمانی را به‌طور انتخابی به بافت تومور رساند، فراهمی زیستی آن را افزایش داد و عوارض جانبی را به حداقل رساند [۴]. در این زمینه، کوئرستین (Que) به‌عنوان ترکیب طبیعی فلانوئیدی با خواص ضدسرطان قوی، توجه زیادی را به خود جلب کرده است. این ترکیب با القای آپوپتوز و مهار رگزایی تومور، ظرفیت زیادی در مهار رشد سلول‌های سرطانی پستان، ازجمله ردهٔ سلولی MCF-7، از خود نشان داده است [۵].

باوجود فعالیت‌های زیستی قابل توجه، کاربرد درمانی کوئرستین به‌دلیل ویژگی‌های فارماکوکینتیکی نامطلوب با محدودیت‌هایی مواجه است. حلالیت بسیار کم این ترکیب در محیط‌های آبی، زیست‌فراهمی محدود پس از مصرف، ناپایداری شیمیایی و حساسیت به عوامل محیطی، موجب کاهش غلظت مؤثر آن در محل هدف می‌شود [۶]. علاوه‌بر این، متابولیسم سریع و حذف زودهنگام کوئرستین در بدن می‌تواند مدت‌زمان حضور آن در گردش خون را کاهش دهد و دسترسی کافی آن به بافت توموری را محدود کند [۷]. بنابراین، توسعهٔ سامانه‌های دارورسانی مناسب، که بتوانند حلالیت و پایداری کوئرستین را افزایش دهند، رهایش آن را کنترل کنند و انتقال انتخابی آن به سلول‌های سرطانی را بهبود بخشند، رویکردی ضروری برای افزایش اثربخشی درمانی این ترکیب محسوب می‌شود. نانوکریستال‌های سلولزی، به‌عنوان تقویت‌کننده‌های زیست‌تخریب‌پذیر، شرایط لازم را برای افزایش استحکام مکانیکی نانوحامل‌ها، پایداری ساختاری و مقاومت در برابر تخریب زودرس فراهم می‌کنند [۸]. این نانوساختارها با ایجاد شبکه‌ای متراکم، امکان رهایش کنترل‌شده و تدریجی دارو را میسر و از رهایش ناگهانی و بی‌موقع عوامل درمانی جلوگیری می‌کنند [۹]. با بهینه‌سازی غلظت این نانوساختارها در نانوحامل‌ها و عامل‌دارکردن سطح نانوحامل‌ها با لیگاندهای سطح سلولی نظیر فولیک‌اسید، می‌توان دارو را به‌طور اختصاصی و با بازدهی بیشتری به سلول‌های سرطانی رساند و عوارض جانبی را به حداقل رساند.

آلبومین سرم گاوی (BSA)، به‌عنوان نوعی پروتئین سرمی فراوان، در دسترس و ارزان، به‌طور گسترده‌ای در سیستم‌های دارورسانی، به‌ویژه آزمون‌های درون‌آزمایشگاهی، به کار می‌رود [۱۰]. در سامانه‌های دارورسانی نانویی، آلبومین سرم گاوی می‌تواند به‌طور طبیعی از طریق اثر افزایش نفوذ و نگهداری (EPR) در بافت‌های توموری تجمع یابد [۱۱]. همچنین، این پروتئین قابلیت اتصال به لیگاندهای مختلف برای هدف‌گیری فعال سلول‌های سرطانی را دارد [۱۲]. پلی‌وینیل‌الکل (PVA) نوعی پلیمر خطی است که برای تشکیل هیدروژل به ایجاد پیوندهای عرضی نیاز دارد. هیدروژل‌های PVA قابلیت فرموlاسیون به‌صورت نانوذرات تزریقی را دارند و می‌توانند برای رهایش کنترل‌شده و طولانی‌مدت داروهای مختلف استفاده شوند [۱۳]. پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG) به‌عنوان پلیمر زیست‌سازگار و آب‌دوست، به‌طور گسترده‌ای در طراحی نانوحامل‌های دارویی به‌منظور افزایش پایداری کلوئیدی، کاهش تجمع ذرات و بهبود زمان گردش نانوذرات در محیط زیستی استفاده می‌شود [۱۴].

پوشش‌دهی سطح نانوذرات با PEG با ایجاد لایه‌ای هیدروفیلیک، از جذب غیراختصاصی پروتئین‌های پلاسما و شناسایی سریع نانوحامل‌ها با سیستم رتیکولوآندوتلیال جلوگیری می‌کند و در نتیجه، موجب افزایش نیمه‌عمر سیستم دارورسانی در گردش خون و بهبود دسترسی دارو به بافت هدف می‌شود. همچنین، حضور PEG می‌تواند با بهبود پراکندگی نانوذرات و جلوگیری از تجمع آن‌ها، در حفظ ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی سامانه‌های نانودارویی نقش مهمی ایفا کند [۱۵]. همچنین، لیگاندهای فولیک‌اسید به‌عنوان هدف‌یاب مولکولی دقیق در سامانه‌های دارورسانی نانویی عمل می‌کند که با اتصال اختصاصی به گیرنده‌های فولات، که بر سطح بسیاری از سلول‌های سرطانی ازجمله سرطان پستان به‌وفور بیان می‌شوند، امکان شناسایی و ورود انتخابی نانوحامل‌های دارویی را به درون سلول‌های سرطانی فراهم می‌کند [۱۶].

باوجود مطالعات گسترده در زمینهٔ استفاده از نانوحامل‌های پلیمری، هیدروژل‌های مبتنی‌بر PVA، سامانه‌های آلبومینی و نانوذرات اصلاح‌شده با لیگاندهای زیستی، هنوز دستیابی به نوعی سامانهٔ دارورسانی چندمنظوره که بتواند به‌طور هم‌زمان استحکام ساختاری، ظرفیت مناسب بارگذاری دارو، رهایش کنترل‌شده و هدف‌گیری اختصاصی سلول‌های سرطانی را فراهم کند، با چالش‌هایی همراه است. مطالعات پیشین عمدتاً بر بررسی عملکرد مستقل هریک از این اجزا یا ترکیب محدود برخی از آن‌ها تمرکز داشته‌اند، درحالی‌که استفاده از نانوکریستال‌های سلولزی به‌عنوان تقویت‌کنندهٔ شبکه هیدروژلی PVA/BSA، می‌تواند علاوه‌بر بهبود خواص مکانیکی، در ساختار شبکه، ظرفیت نگهداری دارو و الگوی رهایش کوئرستین تأثیرگذار باشد. همچنین، حضور PEG با افزایش پایداری کلوئیدی و کاهش تجمع نانوذرات، در کنار فولیک‌اسید به‌عنوان عامل هدف‌گیری فعال، می‌تواند محدودیت‌های مرتبط با پایداری زیستی و انتقال انتخابی دارو را کاهش دهد [۱۷]. بااین‌حال، اثر هم‌زمان غلظت نانوکریستال‌های سلولزی در عملکرد چنین سامانه‌ای و طراحی نانوحامل یکپارچه، شامل نانوکریستال‌های سلولزی، هیدروژل PVA/BSA، PEG و فولیک‌اسید برای انتقال کوئرستین به سلول‌های سرطان پستان MCF-7، به‌طور جامع بررسی نشده است.

در سامانه‌های نانودارویی، افزایش تجمع انتخابی دارو در

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17]

بافت توموری می‌تواند از طریق دو مکانیسم اصلی هدف‌گیری غیرفعال و فعال انجام شود [۱۸]. هدف‌گیری غیرفعال عمدتاً براساس پدیدهٔ افزایش نفوذپذیری و ماندگاری (EPR) استوار است، به‌گونه‌ای که نانوذرات با اندازه و ویژگی‌های سطحی مناسب، به‌دلیل افزایش نفوذپذیری عروق توموری و نقص در سیستم تخلیهٔ لنفاوی، تمایل بیشتری برای تجمع در بافت‌های سرطانی نشان می‌دهند [۱۹]. در مقابل، هدف‌گیری فعال با اصلاح سطح نانوحامل‌ها با لیگاندهای اختصاصی مانند فولیک‌اسید انجام می‌شود [۲۰]. در این روش، فولیک‌اسید از طریق اتصال اختصاصی به گیرنده‌های فولات، که در سطح بسیاری از سلول‌های سرطانی، ازجمله سلول‌های MCF-7، بیش‌بیان می‌شوند، موجب افزایش اتصال، ورود سلولی و تجمع انتخابی نانوحامل در سلول هدف می‌شود.

نانوذرهٔ چندمنظورهٔ طراحی‌شده در این پژوهش با ترکیب هم‌افزای نانوکریستال‌های سلولزی، هیدروژل PVA، PEG، آلبومین سرم گاوی و لیگاند فولیک‌اسید، سامانه‌ای هوشمند برای بارگذاری بهینه و رهایش کنترل‌شدهٔ کوئرستین ایجاد می‌کند که با بهره‌گیری هم‌زمان از ویژگی‌های تقویت‌کنندگی نانوکریستال‌های سلولزی، پایداری و افزایش زمان گردش ناشی از PEG و هدف‌گیری فعال با فولیک‌اسید، می‌تواند تجمع انتخابی دارو در سلول‌های سرطان پستان MCF-7 را افزایش دهد و اثربخشی درمانی کوئرستین را بهبود بخشد. بر این اساس، هدف مطالعهٔ حاضر، تهیه و ارزیابی نانوحامل‌های مبتنی‌بر هیدروژل PVA/BSA تقویت‌شده با نانوکریستال‌های سلولزی، اصلاح‌شده با PEG و فولیک‌اسید برای انتقال کوئرستین است. همچنین، اثر غلظت‌های مختلف نانوکریستال‌های سلولزی در ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانوحامل، میزان بارگذاری و الگوی رهایش کوئرستین در شرایط pH مختلف، و آثار زیستی آن، شامل سمیت سلولی علیه سلول‌های سرطان پستان MCF-7، بررسی شد.

روش کار

مواد

کلرید پتاسیم (KCl)، نمک MTT، اتانول، هیدروکلریک اسید (HCL)، کوئرستین، سدیم کلراید (NaCl)، دی‌هیدروژن فسفات پتاسیم (KH_2PO_4)، اسیدسولفوریک، کلروفرم، NH_2-PEG-FA و هیدروکسید سدیم (NaOH) از شرکت مرک (آلمان) خریده شدند. پارافرمالدهید از آزمایشگاه شیمی دکتر موجال (ایران) تهیه شد. همچنین، سرم جنین گاوی (FBS)، محیط کشت DMEM و تریپسین-EDTA از شرکت Biowest (ایالات متحده آمریکا) خریده شدند.

نوع مطالعه

این پژوهش مطالعه‌ای تجربی، آزمایشگاهی و درون‌کشتگاهی (*in vitro*) است که با هدف ارزیابی نوعی سامانهٔ دارورسانی و آثار زیستی آن انجام شد. تمامی آزمایش‌ها در شرایط آزمایشگاهی و روی رده‌های سلولی کشت‌شده انجام گرفت. این مطالعه بخش درون‌تنی (*in vivo*) و انسانی نداشت.

روش انجام کار

سنتز نانوکریستال‌های سلولزی

در این پژوهش، نانوکریستال‌های سلولزی با استفاده از روش هیدرولیز اسیدی میکروسلولز تهیه شدند. بدین منظور، ابتدا gr ۵ میکروسلولز در mL ۱۰۰ اسید سولفوریک ۶۴ درصد به‌طور یکنواخت پراکنده شد و سوسپانسیون حاصل به‌مدت ۴۵ دقیقه در دمای $^{\circ}C$ ۴۵ تحت هم‌زدن مداوم قرار گرفت. پس از پایان هیدرولیز، واکنش با افزودن mL ۵۰۰ آب دیونیزهٔ سرد متوقف شد. سوسپانسیون حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با استفاده از دستگاه فراصوت (kHz ۲۰، توان W ۳۰۰، دامنه ۴۰ درصد) تحت فراصوت قرار گرفت. سپس، نمونه سانتریفیوژ (rpm ۱۲۰۰۰ به‌مدت ۱۵ دقیقه) شد. در ادامه، رسوب حاصل سه مرتبه با آب دیونیزه شست‌وشو داده شد و برای حذف اسید باقی‌مانده، سوسپانسیون در کیسهٔ دیالیز با غشای دارای MWCO برابر با kDa ۱۳ قرار گرفت و در برابر آب دیونیزه به‌مدت ۷۲ ساعت دیالیز شد. آب دیالیز هر شش تا هشت ساعت عوض شد و فرایند تا رسیدن pH سوسپانسیون به‌حدود ۷ ادامه یافت. در نهایت، سوسپانسیون خالص‌شده در دمای $^{\circ}C$ ۸۰- به‌مدت ۱۲ ساعت منجمد و سپس با استفاده از دستگاه انجماد خشک (LMC-2, Rubarth, Germany) به‌مدت ۴۸ ساعت خشک شد. پودر حاصل تا زمان استفاده در ظرف دربسته و در دمای $^{\circ}C$ ۴ نگهداری شد [۲۱].

بارگذاری داروی کوئرستین در نانوکریستال‌های سلولزی (Cel-Que)

برای بارگذاری کوئرستین، ابتدا mg ۳/۰۲ کوئرستین در mL ۱۰ اتانول حل شد تا محلول mM ۱ کوئرستین تهیه شود. سپس mg ۱۰ نانوکریستال سلولزی در mL ۱۰ از محلول کوئرستین قرار داده شد (نسبت جرمی اولیهٔ کوئرستین به نانوکریستال سلولزی ۵:۳). مخلوط حاصل به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای $^{\circ}C$ ۲۵ و با سرعت rpm ۱۵۰ دور در دقیقه روی شیکر انکوبه شد تا فرایند جذب و بارگذاری کوئرستین انجام گیرد. پس از پایان فرایند بارگذاری، سوسپانسیون سانتریفیوژ (rpm ۱۲۰۰۰ به‌مدت ۱۵ دقیقه) شد. سپس، مایع رویی جمع‌آوری و رسوب حاصل با mL ۱۰ اتانول ۷۰ درصد شست‌وشو داده شد. مرحلهٔ شست‌وشو دو بار تکرار شد و مایعات رویی حاصل برای تعیین مقدار

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17]

کوئرستین آزاد اندازه‌گیری شدند [۲۲].

تعیین میزان بارگذاری کوئرستین

غلظت کوئرستین با استفاده از اسپکتروفتومتر UV–Vis (Bio-Rad SmartSpec™ Plus ,USA) و در طول موج nm ۳۷۲ تعیین شد. مقدار کوئرستین بارگذاری‌شده براساس اختلاف بین مقدار اولیهٔ کوئرستین و مقدار کوئرستین موجود در مایع رویی و محلول‌های شست‌وشو محاسبه شد. در انتها، رسوب حاوی Cel-Que به کمک انجماد خشک، خشک و تا زمان استفاده در دمای ۴ ˚C نگهداری شد.

تهیهٔ نانوذرات BSA-PVA-Cel-Que پوشش‌دارشده با PEG-Folic acid (BPCQPF)

برای تهیهٔ نانوذراتBPCQPF، ابتدا Cel-Que ۲۰ mg در ۲۰ mL آب دیونیزه پراکنده شد. سپس BSA ۵۰ mg و PVA ۲۵ mg به‌ترتیب به سوسپانسیون افزوده شدند و مخلوط به‌مدت دو ساعت با سرعت ۵۰۰ rpm در دمای اتاق هم زده شد تا پوشش‌دهی و تشکیل ساختار پایدار انجام گیرد. برای اصلاح سطحی نانوذرات، ابتدا NH_2-PEG-FA ۱۰ mg در ۱۰ mL بافر PBS (۱۰ mM و pH= ۷/۴) حل شد. همچنین، به‌منظور فعال‌سازی گروه‌های کربوکسیلی، EDC ۱۰ mg و ۱۵ mg NHSبه محلول افزوده شد و مخلوط به‌مدت سی دقیقه در دمای اتاق و با سرعت ۳۰۰ rpm هم زده شد. در ادامه، محلول فعال‌شده NH_2-PEG-FA به سوسپانسیون BSA/PVA/Cel-Queاضافه و واکنش به‌مدت دوازده ساعت در دمای اتاق و با سرعت ۳۰۰ rpm ادامه یافت. در پایان، محصول حاصل در کیسهٔ دیالیز با MWCO برابر با ۱۳ kDa قرار داده شد و در برابر آب دیونیزه به‌مدت ۴۸ ساعت دیالیز شد. آب دیالیز هر شش ساعت عوض شد. پس از اتمام دیالیز، نانوذرات در دمای ۴ ˚C نگهداری شدند [۲۳].

تعیین مشخصات فیزیکوشیمیایی نانوذرات

به‌منظور تأیید وجود گروه‌های عملکردی نانوذرات BSA-PVA و BPCQ (با درصدهای مختلف نانوکریستال‌های سلولزی) از طیف‌سنجی FTIR و قرص‌های KBr در منطقهٔ cm^{-1} ۴۰۰۰-۴۰۰ و دستگاه اسپکتروفتومتر (Bomem-MB 100, ABB, Kanada) استفاده شد. اندازهٔ متوسط نانوذرات و پتانسیل زتای آن‌ها با استفاده از پراکندگی نور پویا (DLS, Malvern Instruments, Westborough, USA) تعیین شد.

سینتیک آزادسازی دارو

برای مقایسهٔ سینتیک انتشار Que از نانوذرات BPCQPF حاوی غلظت‌های مختلف نانوکریستال‌های سلولزی، از دو محیط با pH متفاوت شامل (pH=۷/۴ و pH=۴/۸، به‌عنوان شرایط فیزیولوژیک و اسیدی مدل‌سازی‌شده، استفاده شد. برای تعیین سینتیک آزادسازی، نانوذرات به‌طور جداگانه در ۱۰ mL بافر استات سدیم و محلول گلوکز ۵ درصد در دمای ۳۷ ˚C انکوبه شدند. در فواصل زمانی برنامه‌ریزی‌شده (هر سی دقیقه تا سی روز)، نمونه‌ها سانتریفیوژ (۱۲۰۰۰ rpm) به‌مدت سی دقیقه) شدند و مایع رویی برای سنجش میزان کوئرستین آزادشده جمع‌آوری شد. سپس نانوذرات با ۱۰ mL از همان محیط رهایش مجدداً سوسپانسیون و تا زمان نمونه‌برداری بعدی در شرایط مذکور نگهداری شدند [۲۳].

مقدار کوئرستین آزادشده در هر نمونه با استفاده از اسپکتروفتومتری UV–Vis (Bio-Rad SmartSpec™ Plus USA,) در طول موج ۳۷۲ nm تعیین شد. به‌منظور تعیین غلظت کوئرستین، منحنی استاندارد با تهیه محلول‌های استاندارد کوئرستین در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ $\mu g.mL^{-1}$تهیه شد. جذب نوری هریک از محلول‌های استاندارد در ۳۷۲ nm اندازه‌گیری و منحنی استاندارد براساس رابطهٔ بین غلظت کوئرستین و جذب نوری ترسیم شد. غلظت کوئرستین موجود در نمونه‌های رهایش با استفاده از معادلهٔ خط حاصل از منحنی استاندارد محاسبه و درصد تجمعی رهایش براساس مقدار اولیهٔ کوئرستین بارگذاری‌شده تعیین شد [۲۴]. برای محاسبهٔ میزان رهایش محموله‌ها از معادلهٔ زیر استفاده شد:

$$\text{درصد انتشار تجمعی (معادلهٔ ۲)} = \frac{Dr^{t} + Dr^{t+1}}{DE}$$

مقدار اندازه‌گیری‌شده محموله (Que) در مایع رویی در هر زمان (t): Dr^{t}

مقدار اندازه‌گیری‌شده محموله (Que) در مایع رویی در زمان (t+1): Dr^{t+1}

مقدار محموله (Que) محصورشده در نانوذرات :DE

بررسی سمیت نانوحامل‌ها

تهیهٔ ردهٔ سلولی

رده‌های سلولی MCF-7 (ATCC® HTB-22) و MCF-10A(ATCC® CRL-10317) از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران (NBRC)، جهاد دانشگاهی، تهیه شدند.

کشت ردهٔ سلولی MCF-7

ردهٔ سلولی MCF-7 در محیط DMEM حاوی ۱۰ درصد FBSو ۱ درصد پنی‌سیلین/استرپتومایسین کشت داده شد. سلول‌ها در دمای ۳۷ ˚C، رطوبت اشباع و اتمسفر حاوی ۵ درصد CO_2 نگهداری شدند.

کشت ردهٔ سلولی MCF-10A

برای این منظور، ابتدا سلول‌های MCF-10A در محیط کشت DMEM/F-12 تکمیل‌شده با ۵ درصد سرم اسب،

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17]

$\mu g.ml^{-1}$ ۱۰ انسولین، $ng.ml^{-1}$ ۲۰ فاکتور رشد اپیدرمی، $\mu g.ml^{-1}$ ۰/۵ هیدروکورتیزون، $ng.ml^{-1}$ ۱۰۰ پنی‌سیلین/استرپتومایسین و در پلیت‌های ۹۶ چاهکی (ده‌هزار سلول در هر µL ۲۰۰ محیط کشت در هر چاهک) کشت شدند. این سلول‌ها سپس به انکوباتور (۵ درصد CO_2 در دمای $^{\circ}C$ ۳۷) به‌مدت ۲۴ ساعت منتقل شدند.

آزمون MTT (سمیت سلولی)

برای انجام آزمون MTT، تعداد ۱×۱۰^{۴} سلول از رده‌های MCF-7و MCF-10A در هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، سلول‌ها با غلظت‌های مختلف Que (صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ $\mu g.ml^{-1}$) و صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ $\mu g.ml^{-1}$ از نانوکپسول‌های BPCQPF(با غلظت‌های مختلف نانوکریستال‌های سلولزی) و همچنین صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ $\mu g.ml^{-1}$ از نانوکپسول‌های BPCPF (بدون دارو و در غلظت‌های مختلف نانوکریستال‌های سلولزی) تیمار و دوباره انکوبه شدند. پس از ۲۴ ساعت، ۲۰ میکرولیتر محلول MTT (۵ $\mu g.ml^{-1}$ در محیط کشت) به هر چاهک اضافه شدند و پس از انکوباسیون (پنج ساعت و دمای $^{\circ}C$ ۳۷)، مایع رویی برداشته و بلورهای فورمازان با دی‌متیل سولفوکسید (DMSO) (۲۰۰µL در هر چاهک) حل شد. پس از انکوباسیون (سی دقیقه و دمای $^{\circ}C$ ۳۷)، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۷۰ nm با استفاده از میکروپلیت‌ریدر (BioTek Instruments, Winooski, VT, USA) و با طول موج مرجع ۶۳۰ nm اندازه‌گیری شد [۲۵]. درصد زنده‌مانی سلول‌ها با استفاده از رابطهٔ زیر محاسبه شد:

۱۰۰ × (جذب نوری گروه کنترل/ جذب نوری گروه تیمار)=درصد زنده‌مانی

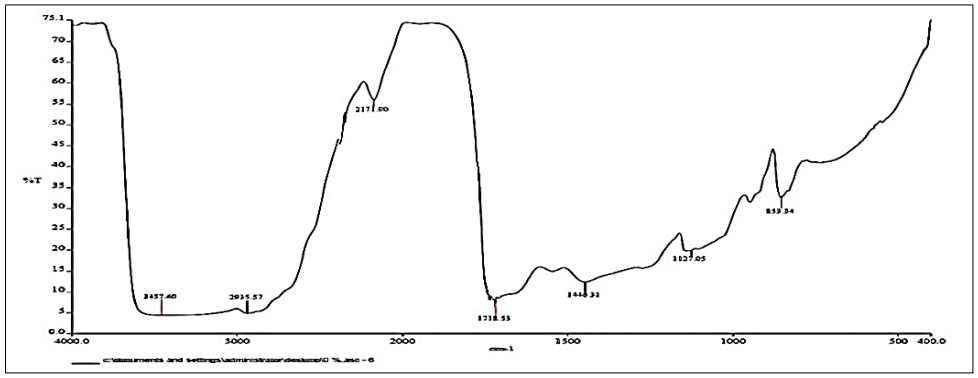
تجزیه‌وتحلیل آماری

هر آزمایش در سه تکرار مستقل انجام شد و داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شدند. در آزمون سمیت سلولی، گروه کنترل بدون تیمار به‌عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد و گروه‌های تیمار شامل کوئرستین آزاد، نانوکپسول‌های حاوی کوئرستین و نانوکپسول‌های فاقد دارو بودند. در آزمون رهایش نیز نمونه‌های نانوذرات حاوی کوئرستین در محیط‌های رهایش با pHهای مورد مطالعه بررسی شدند و نمونه‌های فاقد دارو به‌عنوان شاهد روش استفاده شدند. نرمال‌بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی شد. برای مقایسه اثر هم‌زمان عوامل مورد مطالعه، ازجمله غلظت، زمان، نوع تیمار و pH، از تحلیل واریانس دوطرفه (Two-way ANOVA) متناسب با طراحی هر آزمایش استفاده شد و در مواردی که مقایسهٔ بیش از دو گروه انجام شد، آزمون تعقیبی مناسب برای مقایسه‌های چندگانه به کار رفت. سطح معنی‌داری آماری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. تمامی تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSSنسخهٔ ۲۲ انجام شد.

نتایج

FTIR

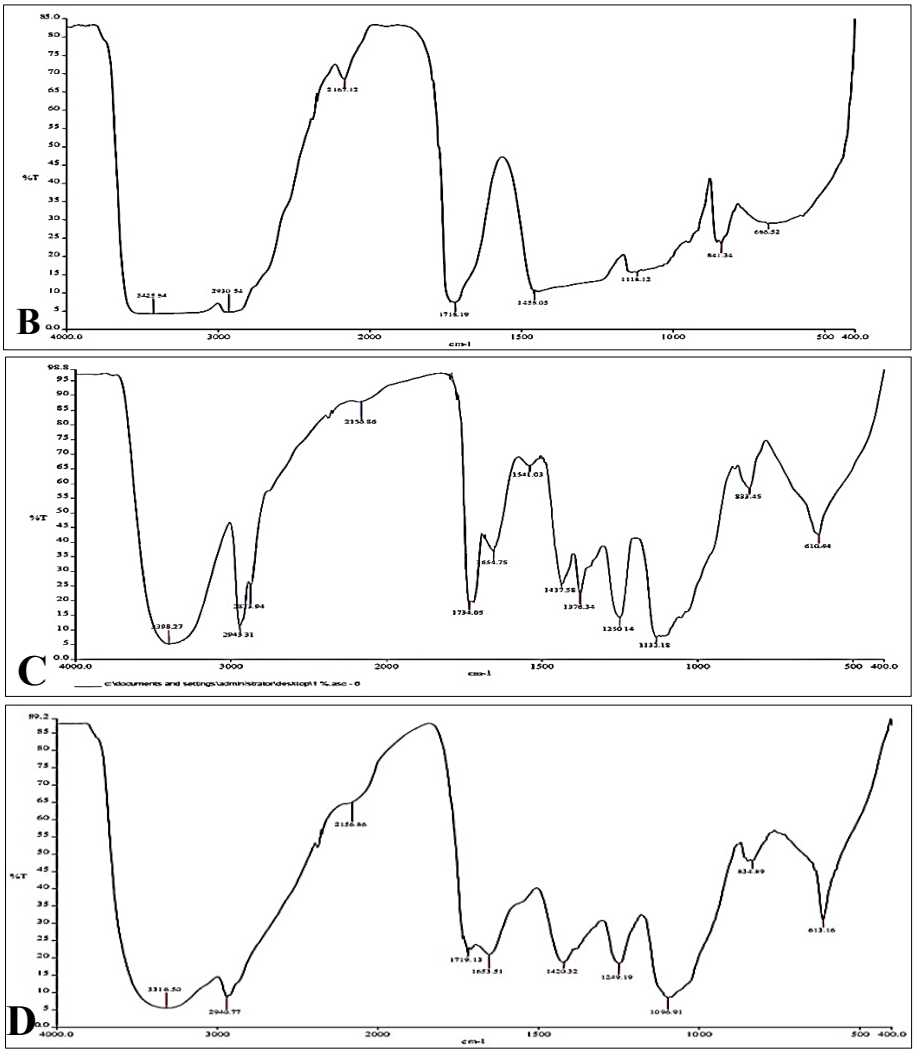
طیف‌های FTIR تغییرات ساختاری نانوذرات ترکیبی را تأیید کردند. در نانوذرهٔ پایهٔ BSA-PVA، نوار جذبی پهن در محدودهٔ cm^{-1} ۳۴۵۷ مربوط به هم‌پوشانی ارتعاشات کششی پیوند O-H در PVA و تشکیل پیوند هیدروژنی با گلوتارآلدهید (عامل شبکه‌ای‌کننده)، همراه با ارتعاش کششی نامتقارن گروه NH_3در BSA بود. همچنین، نوارهای جذبی مشاهده‌شده در محدودهٔ ۲۹۳۵، ۲۱۷۱ و cm^{-1}۱۷۱۸ به‌ترتیب به گروه‌های عاملی C-H در PVA، CO_2 در BSA و C=O در گلوتارآلدهید ارتباط داده می‌شود. همچنین، نوار جذبی در ناحیهٔ cm^{-1} ۱۷۱۸ تشکیل پیوند عرضی بین گروه‌های آمینو پروتئین و آلدهید را نشان می‌داد (شکل ۱-A). با افزودن ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نانوکریستال سلولز بارگذاری‌شده با کوئرستین (BSA-PVA-Cel-Que)، نوارهای جذبی جدیدی نظیر cm^{-1} ۱۶۸۸، ۱۴۰۶ و ۱۱۱۳ مشاهده شد که به‌ترتیب به گروه‌های عاملی C=O، CH_2 وCOH موجود در سلولز مربوط هستند (شکل ۱-B). افزایش غلظت نانوکریستال‌ها به ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، به تشدید و واضح‌ترشدن نوارهای جذبی اختصاصی سلولز منجر شد. برای مثال، نوار جذبی C=O سلولز در cm^{-1} ۱۶۵۴ و نوار جذبی C-Oدر cm^{-1} ۱۴۳۷ شدت بیشتری یافتند. همچنین، نوارهای جذبی در ناحیهٔ cm^{-1} ۱۳۷۶ (C-H)، cm^{-1} ۱۲۵۰ (C-OH) و cm^{-1} ۱۱۳۲ (C-O-C) مشخص‌تر شدند (شکل ۱-C و D). این



[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17]

A

تغییرات طیفی، بارگذاری موفق و افزایش حضور نانوکریستال‌های سلولزی در ساختار نانوکپسول نهایی را تأیید می‌کنند.



شکل ۱. طیف FTIR

A. هیدروژل BSA-PVA و نانوذرات BSA-PVA-Cel حاوی غلظت‌های مختلف نانوکریستال‌های سلولزی؛ B. ۵۰؛ C. ۱۰۰؛ D. ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر میلی‌لیتر از محلول کوئرستین

DLS

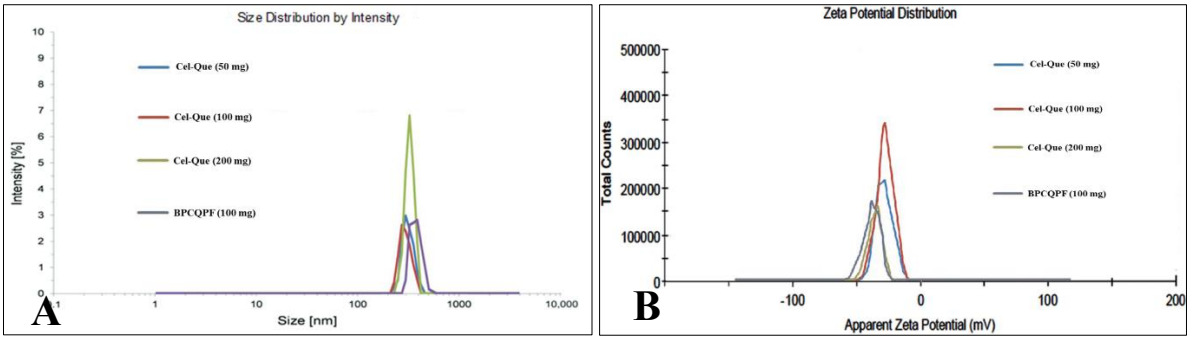
برطبق نتایج حاصل از اندازه و پتانسیل زتای نانوذرات سنتز شده (جدول ۱ و شکل ۲)، مشخص شد که نانوذرات Cel-Que و نانوکپسول BPCQPF از نظر اندازه و یکنواختی در محدود» مطلوبی برای دارورسانی قرار دارند. با افزایش غلظت نانوکریستال سلولزی از ۵۰ به ۲۰۰ میلی‌گرم در نانوذرات Cel-Que، اندازهٔ ذرات از ۱۴/۷±۳۲۲ به ۲۱/۳±۳۶۳ نانومتر و یکنواختی نانوذرات (PDI) افزایش یافت که نشان‌دهندهٔ تشکیل ساختارهای پایدارتر بود. همچنین، پتانسیل زتای نانوذرات با افزایش غلظت نانوکریستال سلولزی، به ۱۴/۷۲±۳۰/۶- میلی‌ولت کاهش یافت. از سوی دیگر، نانوکپسول BPCQPF (حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم نانوکریستال) نیز اندازه و PDI بهینه‌ای نشان داد که حاکی از حفظ ساختار و امکان رهایش مؤثر دارو است.

جدول ۱. اندازه، پتانسیل زتا و شاخص پراکندگی اندازه (PDI) فرمولاسیون‌های Cel-Que حاوی ۵۰ mg، ۱۰۰ و ۲۰۰ نانوکریستال سلولزی (CNC) به‌ازای هر mL محلول کوئرستین و نانوکپسول BPCQPF 100 mg به‌ازای هر mL محلول کوئرستین

نوع نانوذره/ نانوکپسول	اندازه ذرات (nm)	انحراف معیار	پتانسیل زتا (mV)	انحراف معیار	PDI	انحراف معیار
Cel-Que (50 mg)	۳۲۲	±۱۴/۷	-۱۹/۰۵	±۴/۲۳	۰/۲۸	±۰/۰۵
Cel-Que (100 mg)	۳۳۸	±۱۱/۳	-۲۱/۰۱	±۳/۱۴	۰/۳۱	±۰/۰۹
Cel-Que (200 mg)	۳۶۳	±۱۲/۳	- ۳۰/۱۴	±۶/۷۲	۰/۳۳	±۰/۱۰
BPCQPF (100 mg)	۴۷۶	±۱۴/۵	- ۴۰/۹۱	±۵/۱۷	۰/۵۱	±۰/۰۸

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17]

مقادیر به‌صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده‌اند

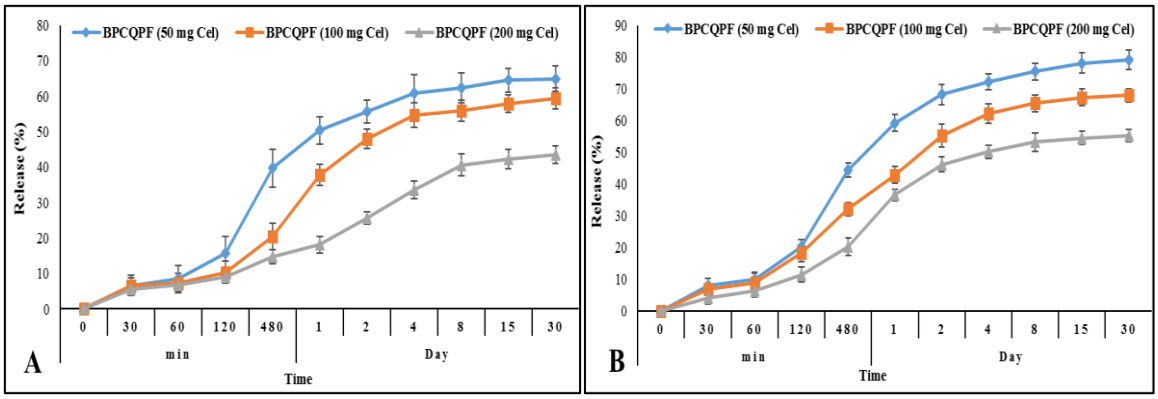


شکل ۲. A. اندازه، B. پتانسیل زتای نانوذرات Cel-Que حاوی ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم نانوکریستال‌های سلولزی به‌ازای هر میلی‌لیتر از محلول کوئرستین و نانوکپسول BPCQPF

الگوی رهایش داروی Que از نانوکپسول‌های BPCQPF با درصدهای مختلف نانوکریستال‌های سلولزی

الگوی رهایش تجمعی کوئرستین (Que) از نانوکپسول‌های BPCQPFحاوی مقادیر مختلف نانوکریستال سلولزی (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰mg) در دو شرایط pH مختلف، وابستگی مشخصی به ترکیب نانوحامل و شرایط محیطی نشان داد (شکل ۳). در محیط با pH=۷/۴ (شکل ۳-A)، میزان رهایش اولیه طی سی دقیقه نخست برای فرمولاسیون‌های حاوی ۵۰ mg، ۱۰۰ و ۲۰۰ نانوکریستال سلولزی به‌ترتیب ۶/۲ ±۰/۸، ۶/۸ ±۰/۷ و ۵/۱ ±۰/۶ درصد بود. پس از ۲۴ ساعت، میزان رهایش تجمعی به‌ترتیب به ۵۰/۶ ± ۲/۱۱، ۳۷/۸ ± ۲/۰۸ و ۱۸/۳ ± ۱/۶ درصد افزایش یافت.

این روند در ادامه نیز به‌صورت تدریجی ادامه داشت و پس از سی روز، میزان رهایش تجمعی برای فرمولاسیون‌های حاوی ۵۰ mg، ۱۰۰ و ۲۰۰ نانوکریستال سلولزی به‌ترتیب به ۶۵/۱ ± ۲/۶۵، ۵۹/۵ ± ۲/۳۳ و ۴۳/۶ ± ۱/۹۹ درصد رسید. در شرایط pH=۴/۸ (شکل ۳-B) ، پروفایل رهایش سریع‌تر و میزان رهایش تجمعی بالاتری در مقایسه با pH=۷/۴ مشاهده شد. پس از ۲۴ ساعت، میزان رهایش کوئرستین از فرمولاسیون‌های حاوی ۵۰ mg، ۱۰۰ و ۲۰۰ نانوکریستال سلولزی به‌ترتیب ۲/۳ ± ۵۹/۴، ۱/۲ ± ۴۲/۱ و ۱/۱۱ ± ۳۶/۲ درصد بود. در پایان روز سی‌ام، میزان رهایش تجمعی در این فرمولاسیون‌ها به‌ترتیب به ۳/۱۱ ± ۷۹/۶، ۲/۷۸ ± ۶۸/۴ و ۲/۳۳ ± ۵۵/۳ درصد افزایش یافت.



شکل ۳. نمودار آزادسازی داروی کوئرستین از نانوکپسول‌های BPCQPF با غلظت‌های متفاوت (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم نانوکریستال سلولزی) به‌ازای هر میلی‌لیتر کوئرستین از محیط با A. pH=۷/۴ و B. pH=۴/۸

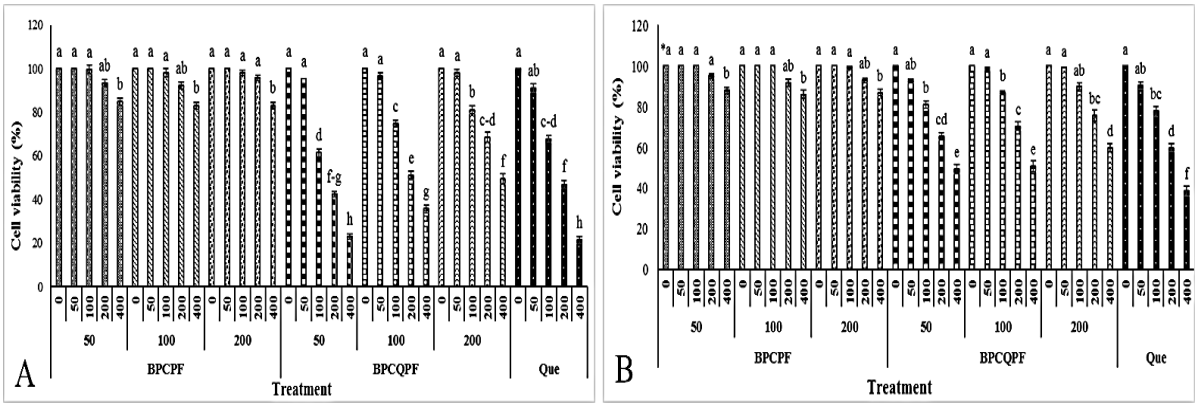
مقایسهٔ میان فرمولاسیون‌ها نشان داد که در هر دو محیط با pH مختلف، افزایش مقدار نانوکریستال سلولزی از ۵۰ mg به ۲۰۰ mg به‌طور معنی‌داری میزان و سرعت رهایش کوئرستین را کاهش می‌دهد. این رفتار را می‌توان به افزایش تراکم ساختار نانوحامل و در نتیجه، کاهش نفوذپذیری و افزایش مسیر انتشار مولکول‌های دارو نسبت داد. از سویی دیگر، مقایسهٔ پروفایل‌های رهایش در دو شرایط pH نشان داد که کاهش pH از ۷/۴ به ۴/۸ با افزایش معنی‌دار (در سطح احتمال ۵ درصد) آزادسازی کوئرستین همراه بود. افزایش رهایش در شرایط اسیدی می‌تواند با تغییر در برهم‌کنش‌های بین کوئرستین و اجزای نانوحامل، تغییر رفتار تورمی ماتریس و نیز افزایش حلالیت یا تحرک مولکول‌های دارو در محیط مرتبط باشد. درمجموع، نتایج نشان می‌دهد که هر دو عامل مقدار نانوکریستال سلولزی و pH محیط، در تنظیم پروفایل رهایش کوئرستین نقش تعیین‌کننده‌ای ایفا می‌کنند، به‌گونه‌ای که افزایش مقدار نانوکریستال سلولزی موجب کندترشدن رهایش، درحالی‌که شرایط اسیدی موجب افزایش

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17]

میزان رهایش تجمعی می‌شود.

بررسی سمیت سلولی ترکیبات سنتزشده

نتایج بررسی زنده‌مانی سلول‌ها نشان داد که پاسخ MCF-7 و MCF-10A به فرمولاسیون‌های مختلف، به نوع تیمار و غلظت کوئرستین وابسته بود (شکل ۴). در سلول‌های MCF-7، نانوکپسول‌های BPCPF فاقد کوئرستین در هر سه سطح نانوکریستال سلولزی ۵۰ mg، ۱۰۰ و ۲۰۰، اثر محدودی در زنده‌مانی سلولی داشتند و در بیشتر غلظت‌های مورد بررسی، زنده‌مانی در محدودهٔ حدود ۸۵ تا ۱۰۰ درصد باقی ماند و اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد میان تیمارها مشاهده نشد. در مقابل، تیمار باBPCQPF حاوی کوئرستین کاهش مشخص و وابسته به غلظت در زنده‌مانی MCF-7 ایجاد کرد، به‌طوری که در این نوع از ردهٔ سلولی و نانوذرات BPCQPF حاوی ۵۰ mg نانوکریستال سلولزی، زنده‌مانی سلولی از حدود ۱۰۰ درصد در غلظت صفر (کوئرستین) به ۸۲/۵۶، ۴۴/۷۸ و ۲۳/۲۳ درصد در غلظت‌های $\mu g.ml^{-1}$ ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ (کوئرستین) کاهش یافت که این کاهش در غلظت‌های بالاتر در مقایسه با کنترل معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$).



شکل ۴. تأثیر نانوکپسول‌های BPCPF فاقد کوئرستین و حاوی ۵۰ mg، ۱۰۰ و ۲۰۰ نانوکریستال سلولزی (CNC)، نانوکپسول‌های BPCQPF حاوی کوئرستین و مقادیر مختلف CNC (۵۰ mg، ۱۰۰ و ۲۰۰ به‌ازای هر mL محلول کوئرستین) و کوئرستین آزاد (Que) در زنده‌مانی سلول‌های A. MCF-7 و B. MCF-10A

* حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در هر زمان ($P<۰/۰۵$) است.

در فرمولاسیون حاوی ۱۰۰ mg نانوکریستال سلولزی نیز زنده‌مانی سلولی ردهٔ سلولی MCF-7 با افزایش غلظت کوئرستین کاهش یافت و در بالاترین غلظت ($\mu g.ml^{-1}$ ۴۰۰) به ۳۱/۳۵ درصد رسید (شکل ۴-A)، به‌طوری‌که اختلاف غلظت‌های بالاتر با کنترل از نظر آماری معنی‌دار بود. در فرمولاسیون حاوی ۲۰۰ mg نانوکریستال سلولزی، کاهش زنده‌مانی سلولی ردهٔ سلولی MCF-7 در غلظت‌های بالاتر کوئرستین نیز مشاهده شد، اگرچه شدت این کاهش در مقایسه با برخی فرمولاسیون‌های دارای مقدار کمتر نانوکریستال سلولزی متفاوت بود. کوئرستین آزاد نیز اثر وابسته به غلظت در MCF-7 نشان داد و زنده‌مانی سلول‌ها از حدود ۱۰۰ درصد در غلظت صفر به ۹۳/۵۰، ۷۸/۶۷ و ۳۳/۶۶ درصد در غلظت‌های $\mu g.ml^{-1}$ ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ کاهش یافت، به‌طوری که کاهش زنده‌مانی در غلظت‌های بالاتر معنی‌دار بود (شکل ۴-A).

در ردهٔ سلولی MCF-10A، BPCPF (نانوذرهٔ فاقد دارو) نیز سمیت محدودی نشان داد و زنده‌مانی سلولی در اغلب غلظت‌ها در محدودهٔ ۹۰ تا ۱۰۰ درصد باقی ماند (شکل ۴-B). از سویی نیز تیمار سلول‌های MCF-10A با BPCQPF (نانوذره حاوی دارو) تحت تأثیر غلظت استفاده‌شده قرار گرفت و با افزایش غلظت، زنده‌مانی سلولی کاهش یافت، اما شدت این اثر نسبت به ردهٔ سلولی MCF-7 کمتر بود، به‌طوری‌که در بالاترین غلظت ($\mu g.ml^{-1}$ ۴۰۰)، زنده‌مانی سلولی در فرمولاسیون‌های مختلف در محدودهٔ ۶۰ تا ۸۰ درصد قرار داشت و تنها برخی از مقایسه‌های مربوط به غلظت‌های بالاتر در مقایسه با کنترل، به اختلاف معنی‌دار رسیدند ($P<۰/۰۵$).

کوئرستین آزاد نیز در MCF-10A کاهش وابسته به غلظت زنده‌مانی ایجاد کرد و در بالاترین غلظت ($\mu g.ml^{-1}$ ۴۰۰)، زنده‌مانی سلولی به حدود ۴۰ درصد کاهش یافت که به‌طور معنی‌داری کمتر از غلظت‌های دیگر بود (شکل ۴-B). در مجموع، مقایسهٔ دو ردهٔ سلولی نشان داد که MCF-7 به فرمولاسیون حاوی کوئرستین حساسیت بیشتری داشت، درحالی‌که MCF-10Aمقاومت نسبی بیشتری نشان داد. همچنین، مقایسهٔ BPCQPFبا BPCPF نشان داد که کاهش زنده‌مانی مشاهده‌شده عمدتاً با حضور کوئرستین مرتبط بود و نه صرفاً با اجزای نانوکپسول؛ زیرا BPCPF در شرایط مشابه کاهش قابل‌توجهی در زنده‌مانی ایجاد نکرد.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17]

بحث

در مطالعهٔ حاضر، نوعی سامانهٔ نانوحامل چندجزئی بر پایهٔ BSA/PVA/Cel-Queبا اصلاح سطحی PEG/FA (BPCQPF) برای بارگذاری و رهایش کنترل‌شده کوئرستین طراحی و آثار زیستی آن در شرایط *in vitro* در سلول‌های سرطان پستان MCF-7 و سلول‌های غیرتوموری MCF-10A بررسی شد. نکتهٔ اصلی در تفسیر یافته‌های این مطالعه آن است که عملکرد نانوحامل را نمی‌توان صرفاً براساس کاهش اندازهٔ ذرات یا حضور اجزای سطحی آن ارزیابی کرد، بلکه ارتباط میان ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، مقدار نانوکریستال سلولزی، الگوی رهایش و پاسخ سلولی باید به‌صورت زنجیرهٔ به‌هم‌پیوسته در نظر گرفته شود. نتایج حاضر نشان دادند که افزایش مقدار نانوکریستال سلولزی، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و رفتار رهایش کوئرستین را تغییر می‌دهد و در نهایت فرمولاسیون‌های حاوی کوئرستین، به‌ویژه در سلول‌های MCF-7، در مقایسه با نانوحامل فاقد دارو، اثر مهاری بیشتری ایجاد می‌کنند. این یافته کلی با شواهد موجود دربارهٔ مزیت بالقوهٔ نانوفرمولاسیون کوئرستین در مقایسه با شکل آزاد آن همسو است [۲۶]، بااین‌حال، داده‌های حاضر بیشتر بیانگر بهبود عملکرد سامانه طراحی‌شده در شرایط *in vitro* هستند و برای نتیجه‌گیری دربارهٔ اثربخشی درمانی یا هدف‌گیری اختصاصی در شرایط *in vivo* کافی نیستند.

نتایج FTIR نخستین شواهدی را فراهم کردند که نشان می‌دهد با ورود Cel-Que به ساختار BSA/PVA و افزایش مقدار نانوکریستال سلولزی، تغییرات قابل‌تشخیصی در الگوی باندهای جذبی ایجاد می‌شود (شکل ۱). افزایش شدت برخی باندهای منتسب به گروه‌های موجود در ساختار سلولزی با افزایش مقدار CNC، با افزایش سهم این جزء در ساختار نانوحامل سازگار است. بااین‌حال، FTIR به‌تنهایی نمی‌تواند بارگذاری موفق کوئرستین، ایجاد پیوند شیمیایی اختصاصی یا نحوهٔ قرارگیری دقیق اجزا در ساختار نانوذره را اثبات کند، بلکه در این مطالعه، باید آن را به‌عنوان شواهدی از تغییرات گروه‌های عاملی و سازگاری ساختاری اجزای فرمولاسیون در نظر گرفت. نتایج DLS (جدول ۱)، نیز نشان دادند که تغییر مقدار نانوکریستال سلولزی با تغییر اندازه و PDI فرمولاسیون‌های Cel-Queهمراه است. برطبق نتایج حاصل مشخص شد که با افزایش مقدار CNC، اندازهٔ ذرات از حدود ۳۲۲ nm به ۳۶۳ افزایش یافت که افزایش سهم این جزء احتمالاً ساختارهای بزرگ‌تر یا تجمع‌یافته‌تری ایجاد کرده است.

از سوی دیگر، تغییر پتانسیل زتا نیز بیانگر آن است که افزایش مقدار CNC ترکیب سطحی و بار سطحی ذرات را تغییر داده است. باوجوداین، این داده‌ها به‌تنهایی اثبات نمی‌کنند که افزایش اندازه ذرات علت مستقیم کاهش یا افزایش رهایش دارو یا تغییر سمیت سلولی بوده است. اندازهٔ ذرات، PDI، بار سطحی، میزان بارگذاری دارو، برهم‌کنش‌های بین‌مولکولی و ساختار ماتریس همگی می‌توانند به‌طور هم‌زمان در انتقال جرم و رفتار دارو اثر بگذارند. بنابراین، ارتباط مشاهده‌شده میان ویژگی‌های DLSو رهایش در مطالعهٔ حاضر باید به‌عنوان ارتباط تجربی و نه رابطهٔ علت‌ومعلولی قطعی تفسیر شود.

یکی از یافته‌های مهم در این مطالعه، وابستگی قابل‌توجه الگوی رهایش کوئرستین به مقدار CNC و pH محیط بود (شکل ۳). در هر دو محیط (۷/۴ و ۴/۸ =pH)، افزایش مقدار نانوکریستال سلولزی از ۵۰ به ۲۰۰ mg با کاهش سرعت و میزان تجمعی رهایش همراه شد. این روند از دیدگاه دارورسانی قابل‌انتظار است؛ زیرا افزایش سهم یک جزء پلیمری یا سلولزی در ماتریس می‌تواند مسیر نفوذ مولکول دارو را پیچیده‌تر و در برابر انتقال جرم، مقاومت بیشتری ایجاد کند [۲۷]. اثر pH نیز از نظر طراحی سامانهٔ حساس به محیط، قابل‌توجه بود. رهایش کوئرستین در محیط اسیدی‌شده در مقایسه با pH فیزیولوژیک بیشتر بود. این نتیجه با مطالعاتی که برای نانوفرمولاسیون‌های کوئرستین، رهایش بیشتر در محیط‌های اسیدی‌تر را گزارش کرده‌اند، همسو است. برای نمونه، در سامانه‌ای مبتنی‌بر نانوکریستال سلولزی اصلاح‌شده با فولیک‌اسید، رهایش کوئرستین در pH اسیدی ۵/۵ به‌مراتب بیشتر از ۷/۴ =pH گزارش شده است [۲۸]. بااین‌حال، علت افزایش رهایش در مطالعهٔ حاضر را نمی‌توان به‌طور قطعی به عاملی خاص نسبت داد؛ زیرا تغییر یونش کوئرستین، تغییر برهم‌کنش دارو با اجزای نانوحامل، تغییر آب‌دوستی یا تورم ماتریس و تغییر شرایط انتقال جرم می‌توانند هم‌زمان دخیل باشند.

از نظر زیستی، مهم‌ترین یافتهٔ مطالعهٔ حاضر نداشتن سمیت سلولی زیاد نانوذرات BPCPF (نانوذرات فاقد کوئرستین) بر هر دو ردهٔ سلولی (MCF-7 و MCF-10A) بود، درحالی‌که افزودن کوئرستین به نانوحامل موجب کاهش وابسته به غلظت زنده‌مانی سلول‌ها شد (شکل ۴-A). این مقایسه اهمیت کنترل نانوحامل فاقد دارو را نشان می‌دهد؛ زیرا کاهش زنده‌مانی در گروه BPCQPFرا نمی‌توان صرفاً به حضور اجزای حامل نسبت داد. برطبق نتایج به‌دست‌آمده در ردهٔ سلولی MCF-7، مشخص شد که اثر کوئرستین آزاد و فرمولاسیون‌هایBPCQPF با افزایش غلظت تشدید شد و در غلظت‌های بالا، کاهش زنده‌مانی واضح‌تری مشاهده شد. این الگو با مطالعات پیشین دربارهٔ آثار ضدتکثیری کوئرستین در MCF-7 سازگار است. به‌طور مشخص، مطالعاتی روی نانوذرات حاوی کوئرستین گزارش کرده‌اند که نانوفرمولاسیون می‌تواند در مقایسه با کوئرستین آزاد کاهش بیشتری در زنده‌مانی MCF-7 ایجاد کند و این اثر با افزایش شاخص‌های آپوپتوز و استرس اکسیداتیو همراه باشد [۲۹]. در مقابل، پاسخ MCF-10A نشان داد که اثر سیتوتوکسیک کوئرستین به نوع سلول نیز وابسته است (شکل ۴-B). باوجود کاهش زنده‌مانی در غلظت‌های بالاتر، پاسخ این سلول‌ها به

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17]

BPCQPFدر بسیاری از شرایط ملایم‌تر از MCF-7 بود. این یافته از نظر مقایسه انتخاب‌پذیری سلولی قابل‌توجه است، اما نباید آن را به‌عنوان اختصاصیت ضدسرطانی قطعی تفسیر کرد؛ زیرا MCF-10A و MCF-7 از نظر زیست‌شناسی سلولی، متابولیسم، وضعیت گیرنده‌ها و حساسیت به استرس‌های سلولی تفاوت‌های متعددی دارند و تنها مقایسهٔ دو ردهٔ سلولی برای اثبات انتخاب‌پذیری درمانی کافی نیست [۳۰]. در مطالعه‌ای مستقل نیز نانوذرات لیپیدی حاوی کوئرستین در MCF-7 اثر ضدتکثیری و آپوپتوتیک نشان دادند، درحالی‌که MCF-10A حساسیت بسیار کمتری نشان داد [۳۱]. بنابراین، جهت کلی یافتهٔ حاضر با این گزارش همسو است.

وجود PEG و فولیک‌اسید در ساختار BPCQPF با هدف بهبود ویژگی‌های نانوحامل و اصلاح سطح آن، رویکردی متداول در طراحی سامانه‌های دارورسانی است. نتایج حاضر عملکرد مطلوب نانوحامل اصلاح‌شده با فولیک‌اسید را در شرایط *in vitro* نشان داد، بااین‌حال، اثبات هدف‌گیری اختصاصی از طریق گیرندهٔ فولات یا نقش EPR به مطالعات تکمیلی نیاز دارد. همچنین، آثار مشاهده‌شده با کوئرستین با گزارش‌های پیشین دربارهٔ نقش این ترکیب در مهار رشد سلولی و فعال‌سازی مسیرهای مرگ سلولی همسو است. درمجموع، کاهش رهایش با افزایش CNC، پاسخ وابسته به غلظت سلول‌های MCF-7 و سمیت محدود نانوحامل فاقد دارو، عملکرد مناسب BPCQPF را به‌عنوان بستری برای رهایش تنظیم‌شدهٔ کوئرستین نشان می‌دهد. با توجه به ماهیت *in vitro* مطالعه، بررسی جذب سلولی، مسیرهای مولکولی و عملکرد سامانه در مدل‌های *in vivo* می‌تواند در مطالعات آینده به تکمیل این یافته‌ها کمک کند.

نتیجه‌گیری

درمجموع، طراحی سامانه‌های نانویی چندجزئی می‌تواند رویکرد مؤثری برای بهبود قابلیت دارورسانی ترکیبات زیست‌فعالی مانند کوئرستین باشد. سامانهٔ BPCQPF با بهره‌گیری از ترکیب BSA، PVA، نانوکریستال سلولزی و اصلاح سطحی با فولیک‌اسید/PEG، بستری قابل‌تنظیم برای رهایش و بررسی آثار زیستی کوئرستین فراهم کرد. اهمیت این رویکرد در امکان مهندسی هم‌زمان ویژگی‌های نانوحامل و رفتار دارو نهفته است. یافته‌های این مطالعه، ظرفیت BPCQPF را به‌عنوان بستر نانویی قابل‌توسعه برای بهینه‌سازی دارورسانی کوئرستین در شرایط آزمایشگاهی نشان می‌دهد. در ادامه، تکمیل مطالعات مکانیسمی و ارزیابی‌های پیش‌بالینی می‌تواند امکان تعیین ظرفیت واقعی این سامانه را برای کاربردهای دارویی فراهم کند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این اثر نهایت تشکر و قدردانی را از معاونت محترم امور پژوهشی واحد اردبیل دانشگاه آزاد اسلامی به‌منظور همکاری در پروژهٔ علمی حاضر و دانشگاه محقق اردبیل برای انجام برخی از آزمایش‌های تکمیلی دارند. در این مطالعه، صرفاً از رده‌های سلولی تجاری و استاندارد MCF-7 و MCF-10A استفاده شد و هیچ‌گونه نمونهٔ انسانی یا حیوانی به‌طور مستقیم استفاده نشد. تمامی مراحل آزمایشگاهی با رعایت اصول ایمنی زیستی و دستورالعمل‌های مربوط به کار با رده‌های سلولی و مواد شیمیایی انجام شد. کارگروه کمیتهٔ اخلاق دانشگاه محقق اردبیلی این پژوهش را بررسی و تأیید کرد (شناسهٔ اخلاق: IR.UMA.REC.1402.054).

حمایت مالی

این پژوهش در قالب پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد در دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اردبیل انجام شده است. بخشی از هزینه‌ها و امکانات مورد نیاز پژوهش، ازجمله استفاده از تجهیزات و امکانات آزمایشگاهی را واحد اردبیل دانشگاه آزاد اسلامی تأمین و پشتیبانی کرده است.

سهم نویسندگان

نویسندهٔ اول به‌عنوان پژوهشگر اصلی، مسئول اجرای پژوهش، ایده‌پردازی، تدوین پروپوزال، جمع‌آوری و تحلیل داده‌ها و تهیهٔ پیش‌نویس اولیهٔ مقاله بوده است. نویسندهٔ اول (نویسندهٔ مسئول) در ایده‌پردازی و تدوین چهارچوب اصلی طرح، تهیه و تکمیل پروپوزال، تجزیه‌وتحلیل داده‌ها و نگارش و ویرایش مقاله مشارکت کرده است. نویسندهٔ سوم به‌عنوان پژوهشگر همکار، در انتخاب نمونه‌ها، جمع‌آوری و استخراج داده‌ها و تجزیه‌وتحلیل بخشی از داده‌ها همکاری کرده است. تمامی نویسندگان نسخهٔ نهایی مقاله را مطالعه و تأیید کرده‌اند.

تضاد منافع

هیچ‌کدام از نویسندگان این مطالعه، با افراد و دستگاه‌ها تعارض منافعی برای انتشار این مقاله ندارند.

REFERENCES

1. Ahmad A. Breast cancer statistics: recent trends. In: Ahmad A, editor. Breast cancer metastasis and drug resistance: challenges and progress. Cham: Springer; 2019. p. 1-7. [DOI: 10.1007/978-3-030-20301-6_1]
2. Zenjanab MK, Alimohammadvand S, Doustmihan A, Kianian S, Sadeghzadeh Oskouei B, Mazloomi M, et al. Paclitaxel for breast cancer therapy: a review on effective drug combination modalities and nano drug delivery platforms. J Drug Deliv Sci Technol. 2024;95:105567. [DOI: 10.1016/j.jddst.2024.105567]
3. Sugarbaker PH. Optimizing regional chemotherapy for epithelial ovarian cancer. J Obstet Gynaecol Res. 2022;48(6):1306-17. [DOI: 10.1111/jog.15224]
4. Adylova A, Kapanova G, Datkhayeva Z, Raganina K, Tanbayeva G, Baigonova K. Nanotechnology-based cancer chemoprevention in glioblastoma. Folia

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17]

Neuropathol. 2023;61(3):235-41. [DOI: 10.5114/fn.2023.126886]
5. Noruzpour M, Asghari Zakaria R, Zare N, Ebrahimi HA, Parsa Khankandi H, Bourang S, et al. Investigating the anticancer properties of the essential oil and aqueous extract of Moringa oleifera and its biosynthesized metal nanoparticles on MCF-7 and BT-549 cell lines. J Breast Dis. 2024;17(1):59-83. [DOI: 10.61186/ijbd.17.1.59]
6. Deepika, Maurya PK. Health benefits of quercetin in age-related diseases. Molecules. 2022;27(8):2498. [DOI: 10.3390/molecules27082498]
7. Hosseini A, Razavi BM, Banach M, Hosseinzadeh H. Quercetin and metabolic syndrome: a review. Phytother Res. 2021;35(10):5352-64. [DOI: 10.1002/ptr.7144]
8. Hemraz UD, Lam E, Sunasee R. Recent advances in cellulose nanocrystals-based antimicrobial agents. Carbohydr Polym. 2023;315:120987. [DOI: 10.1016/j.carbpol.2023.120987]
9. Babaei-Ghazvini A, Vafakish B, Patel R, Falua KJ, Dunlop MJ, Acharya B. Cellulose nanocrystals in the development of biodegradable materials: a review on CNC resources, modification, and their hybridization. Int J Biol Macromol. 2024;258(Pt 1):128834. [DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.128834]
10. Hayat M, Bukhari SAR, Irfan M. Electrospinning of bovine serum albumin-based nano-fibers: from synthesis to medical prospects; challenges and future directions. Biotechnol J. 2023;18(12):e2300279. [DOI: 10.1002/biot.202300279]
11. Solanki R, Rostamabadi H, Patel S, Jafari SM. Anticancer nano-delivery systems based on bovine serum albumin nanoparticles: a critical review. Int J Biol Macromol. 2021;193(Pt A):528-40. [DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.10.040]
12. Zhang Y, Ye Z, He R, Li Y, Xiong B, Yi M, et al. Bovine serum albumin-based and dual-responsive targeted hollow mesoporous silica nanoparticles for breast cancer therapy. Colloids Surf B Biointerfaces. 2023;224:113201. [DOI: 10.1016/j.colsurfb.2023.113201]
13. Sabbagh F, Khatir NM, Kiarostami K. Synthesis and characterization of κ-carrageenan/PVA nanocomposite hydrogels in combination with MgZnO nanoparticles to evaluate the catechin release. Polymers (Basel). 2023;15(2):272. [DOI: 10.3390/polym15020272]
14. Wang Z, Ye Q, Yu S, Akhavan B. Poly ethylene glycol (PEG)-based hydrogels for drug delivery in cancer therapy: a comprehensive review. Adv Healthc Mater. 2023;12(18):e2300105. [DOI: 10.1002/adhm.202300105]
15. Fu Y, Ding Y, Zhang L, Zhang Y, Liu J, Yu P. Poly ethylene glycol (PEG)-related controllable and sustainable antidiabetic drug delivery systems. Eur J Med Chem. 2021;217:113372. [DOI: 10.1016/j.ejmech.2021.113372]
16. Chitgupi U, Qin Y, Ghosh S, Quinn B, Carter K, He X, et al. Folate-targeted nanoliposomal chemophototherapy. Pharmaceutics. 2023;15(10):2385. [DOI: 10.3390/pharmaceutics15102385]
17. Sui F, Fang Z, Li L, Wan X, Zhang Y, Cai X. pH-triggered "PEG" sheddable and folic acid-targeted nanoparticles for docetaxel delivery in breast cancer treatment. Int J Pharm. 2023;644:123293. [DOI: 10.1016/j.ijpharm.2023.123293]
18. Dilliard SA, Siegwart DJ. Passive, active and endogenous organ-targeted lipid and polymer nanoparticles for delivery of genetic drugs. Nat Rev Mater. 2023;8(4):282-300. [DOI: 10.1038/s41578-022-00529-7]
19. Sebak AA, El-Shenawy BM, El-Safy S, El-Shazly M. From passive targeting to personalized nanomedicine: multidimensional insights on nanoparticles' interaction with the tumor microenvironment. Curr Pharm Biotechnol. 2021;22(11):1444-65. [DOI: 10.2174/1389201021666201211103856]
20. Taiariol L, Chaix C, Farre C, Moreau E. Click and bioorthogonal chemistry: the future of active targeting of nanoparticles for nanomedicines? Chem Rev. 2022;122(1):340-84. [DOI: 10.1021/acs.chemrev.1c00484]
21. Pachuau L, Nath R. Recent developments in shape-controlled synthesis of cellulose nanocrystals. Mini Rev Med Chem. 2023;23(13):1360-75. [DOI: 10.2174/1389557522666220829085805]
22. Chen L, Xu W, Yang Z, McClements DJ, Peng X, Xu Z, et al. Co-encapsulation of quercetin and resveratrol: comparison in different layers of zein-carboxymethyl cellulose nanoparticles. Int J Biol Macromol. 2024;278(Pt 2):134827. [DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.134827]
23. Bourang S, Noruzpour M, Azizi S, Yaghoubi H, Ebrahimi HA. Synthesis and in vitro characterization of PCL-PEG-HA/FeCo magnetic nanoparticles encapsulating curcumin and 5-FU. Nanomed J. 2024;11(2):155-71. [DOI: 10.22038/nmj.2024.76219.1857]
24. Ferreira M, Gomes D, Neto M, Passarinha LA, Costa D, Sousa Â. Development and characterization of quercetin-loaded delivery systems for increasing its bioavailability in cervical cancer cells. Pharmaceutics. 2023;15(3):936. [DOI: 10.3390/pharmaceutics15030936]
25. Ghasemi M, Turnbull T, Sebastian S, Kempson I. The MTT assay: utility, limitations, pitfalls, and interpretation in bulk and single-cell analysis. Int J Mol Sci. 2021;22(23):12827. [DOI: 10.3390/ijms222312827]
26. Tomou EM, Papakyriakopoulou P, Saitani EM, Valsami G, Pippa N, Skaltsa H. Recent advances in nanoformulations for quercetin delivery. Pharmaceutics. 2023;15(6):1656. [DOI: 10.3390/pharmaceutics15061656]
27. Luo D, Wang Y, Zhou D, Wang S, Guo M. Cellulose and its derivatives in drug delivery: recent advances and applications. Pharmaceutics. 2026;18(5):594. [DOI: 10.3390/pharmaceutics18050594]
28. Ostovar S, Pourmadadi M, Zaker MA. Co-biopolymer of chitosan/carboxymethyl cellulose hydrogel improved by zinc oxide and graphene quantum dots nanoparticles as pH-sensitive nanocomposite for quercetin delivery to brain cancer treatment. Int J Biol Macromol. 2023;253(Pt 4):127091. [DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.127091]
29. Niazvand F, Orazizadeh M, Khorsandi L, Abbaspour M, Mansouri E, Khodadadi A. Effects of quercetin-loaded nanoparticles on MCF-7 human breast cancer cells. Medicina (Kaunas). 2019;55(4):114. [DOI: 10.3390/medicina55040114]
30. Heydarian A, Milani D, Moein Fatemi SM. An investigation of the viscoelastic behavior of MCF-10A and MCF-7 cells. Biochem Biophys Res Commun. 2020;529(2):432-6. [DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.06.010]
31. Esmaeli M, Ghanbari A. Therapeutic targeting of quercetin only to breast cancer cells under in vitro conditions: a systematic review. Curr Womens Health Rev. 2025;21(6):e15734048332611. [DOI: 10.2174/0115734048332611250106075111]

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-17]