Iranian Journal of Breast Diseases. 2026; 19(2):53-76

Original Article

Targeted co-delivery of paclitaxel and siRNA using PLA-Chitosan-PEG-Folic acid copolymer nanoparticles for treatment of MCF-7 breast cancer cells

Hashem Yaghoubi[1]✉, Mohammad Zaefizadeh[2]

[1]Department of Biology, Ard.C., Islamic Azad University, Ardabil, Iran
[2]Traditional Medicine and Hydrotherapy Research Center, Ardabil University Of Medical Sciences, Ardabil, Iran

Abstract

Introduction: Nanotechnology addresses the challenge of targeted delivery of drugs and nucleic acids to cancer cells by designing smart delivery systems. This approach enables improved precision and efficiency in the delivery of therapeutic agents. This study focuses on the design and evaluation of a folic acid (FA)-functionalized, PLA/Chitosan/PEG-based multifunctional nanocarrier with tumor-targeting capability and synergistic co-delivery of paclitaxel (PTX) and siRNA to breast cancer cells (MCF-7), aiming to enhance selective uptake and therapeutic efficiency compared to conventional delivery systems.

Methods: PCPF nanoparticles were synthesized and co-loaded with PTX and Survivin-targeting siRNA. FTIR and DLS characterized physicochemical properties. Cargo release was evaluated at different pH values, while cytotoxicity and apoptosis were assessed in MCF-7 and MCF-10A cells using MTT and Annexin V/PI assays, respectively.

Results: FTIR confirmed successful PCPF nanoparticle synthesis. Particle size increased from 162 ± 6 nm to 256 ± 11 nm after PTX/siRNA loading, while zeta potential remained mainly negative. Nanocapsules exhibited pH-responsive sustained release, with greater cargo release at pH 5.0. Cytotoxicity studies demonstrated enhanced selectivity for MCF-7 cells, with PCPF/PTX/siRNA inducing the highest apoptosis, whereas free PTX caused the greatest necrosis.

Conclusion: Folic acid-targeted PCPF nanoparticles enhanced PTX/siRNA co-delivery, promoting selective cytotoxicity, apoptosis, and improved anticancer efficacy.

Keywords: Apoptosis, Controlled drug/gene release, MCF-7, Paclitaxel, Polymeric nanoparticles, and Simultaneous drug/gene delivery.

Received: 2025/11/08
Accepted: 2026/06/03

***Corresponding Author:**
yaghoubi_h@iau.ac.ir

Ethics Approval:
IR.IAU.TABRIZ.REC.1401.265

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]

Copyright © 2026 Yaghoubi and Zaefizadeh. Published by Breast Cancer Research Center, ACECR
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

Introduction

Breast cancer is the most common invasive malignancy among women and remains a major cause of cancer-related mortality worldwide. Despite significant advances in surgery, radiotherapy, chemotherapy, and hormone therapy, the clinical management of breast cancer continues to face substantial challenges, including non-specific drug distribution, systemic toxicity, damage to healthy tissues, and the development of drug resistance, all of which can limit therapeutic efficacy (1). These limitations highlight the need for more effective treatment strategies that selectively target cancer cells while minimizing adverse effects on normal tissues. Nanotechnology-based drug delivery systems have emerged as promising approaches to overcome these challenges by improving the targeted delivery of therapeutic agents, enhancing treatment efficacy, and reducing systemic toxicity (2). Among these strategies, the co-delivery of chemotherapeutic agents and gene-silencing molecules has attracted considerable attention because it enables simultaneous intervention in multiple pathways involved in tumor progression and resistance. Small interfering RNA (siRNA) can selectively suppress the expression of disease-associated genes, including Survivin (BIRC5), a key regulator of tumor cell survival, proliferation, and resistance to therapy. In parallel, paclitaxel (PTX), a widely used anticancer drug, inhibits microtubule dynamics, disrupts cell division, and induces apoptosis in cancer cells (3). Therefore, the combined delivery of PTX and siRNA may provide a synergistic therapeutic effect and improve treatment outcomes in breast cancer. The successful co-delivery of these therapeutic agents requires a carrier system with high biocompatibility, stability, gene-loading capability, and tumor-targeting efficiency. Polylactic acid (PLA) is a biodegradable and biocompatible polymer widely utilized in drug and gene delivery applications due to its favorable safety profile and controlled-release properties (4). Chitosan possesses cationic characteristics that facilitate nucleic acid complexation and enhance gene transfer efficiency. At the same time, polyethylene glycol (PEG) improves nanoparticle stability, prolongs circulation time, and reduces rapid clearance by the immune system (5). In addition, folic acid (FA) can promote selective cellular uptake through folate receptor-mediated targeting, as folate receptors are frequently overexpressed in breast cancer cells (6).

Based on these considerations, the present study was designed to develop a folic acid-functionalized PLA/PEG–chitosan nanocarrier for the co-delivery of paclitaxel and siRNA to MCF-7 breast cancer cells. Subsequently, the physicochemical characteristics, drug and gene loading capacity, release behavior, biocompatibility, cytotoxicity, and targeting efficiency of the developed nanoparticles were systematically evaluated to identify an optimized delivery platform with enhanced therapeutic performance and reduced toxicity for targeted breast cancer treatment.

Materials and Methods

Synthesis of PLA–Chitosan–PEG–FA (PCPF) nanoparticles

Chitosan (100 mg; 50,000 Da; DDA 90%) was dissolved in 20 mL of 1% (w/v) acetic acid. In parallel, folic acid-functionalized PEG (50 mg; 2000 Da) was activated with EDC (25 mg) and NHS (15 mg) in 10 mL DMSO for 2 h at 25 °C. The activated PEG-FA was then added to the chitosan solution, and the pH was adjusted to 5.5 using 1 M NaOH. The reaction proceeded for 24 h at 40 °C under stirring at 500 rpm. The product was precipitated with cold ethanol, dialyzed against deionized water for 48 h with periodic water changes, and freeze-dried. For nanoparticle synthesis, chitosan–PEG–FA (30 μmol) and acrylated PLA (10 μmol) were separately dissolved in chloroform (3 mL). The PLA solution was added dropwise to the chitosan-based solution at 40–45 °C under stirring, followed by 24 h of mechanical stirring. The formed nanoparticles were purified by dialysis for 2 days and then freeze-dried.

Preparation of PCPF/PTX, PCPF/siRNA, and PCPF/PTX/siRNA nanocapsules

PCPF-loaded nanocapsules containing paclitaxel (PTX), siRNA, or their combination were prepared via a solvent diffusion method. Briefly, 20 mg of PCPF was dissolved in 4 mL of chloroform to form the organic phase. For dual-loaded systems, 1 mg PTX and 250 μg siRNA (0.5 mL aqueous phase) were added, followed by 2 min probe sonication (KH 30, 5s pulses) to form a pre-emulsion. Then, 6 mL of 1% (w/v) PVA was added and sonicated for 2 min, followed by the addition of 30 mL of 0.3%

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]

(w/v) PVP under stirring. The dispersion was left for 5 h for solvent diffusion. Residual chloroform was removed by centrifugation (10,000 rpm, 10 min), and nanocapsules were collected at 15,000 rpm for 30 min, then freeze-dried and stored at -20 °C. Single-loaded formulations were prepared similarly using PTX or siRNA alone.

Physicochemical Characterization of Nanoparticles

The presence of functional groups was confirmed by Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR). In addition, particle size and zeta potential were determined using dynamic light scattering (DLS).

Drug and Gene Release Kinetics

The release profiles of PTX and siRNA were evaluated under physiological (pH=7.4) and tumor-mimicking (pH=5.0) conditions at 37°C. Release data were analyzed using the Korsmeyer–Peppas kinetic model to investigate the release mechanism.

Cell Culture and Biological Evaluation

In this study, MCF-7 human breast cancer cells and MCF-10A normal human breast epithelial cells were used to evaluate anticancer activity and selective cytotoxicity of the developed formulations. MCF-10A cells were cultured in DMEM/F-12 medium supplemented with 5% horse serum, insulin (10 µg/mL), epidermal growth factor (20 ng/mL), hydrocortisone (0.5 µg/mL), and antibiotics. MCF-7 cells were maintained in DMEM containing 10% fetal bovine serum (FBS) and 1% antibiotics. Both cell lines were incubated under standard conditions (37 °C, 5% CO_2) and seeded in 96-well plates 24 h before treatment to ensure proper cell attachment.

Cell viability was assessed using the MTT assay, and IC_{50} values were calculated for different formulations. The Selectivity Index (SI) was also determined to evaluate preferential cytotoxicity toward cancer cells. Apoptosis induction in MCF-7 cells was analyzed by Annexin V/PI staining followed by flow cytometry.

Statistical Analysis

All experiments were conducted in triplicate. Data were analyzed using SPSS version 22 through one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Duncan's multiple range test at a significance level of $p < 0.05$. Results are presented as mean ± standard deviation.

Results

FTIR

FTIR spectroscopy was used to identify functional groups and confirm the formation of PCPF nanoparticles. The spectra of PLA, chitosan, PEG, and folic acid exhibited characteristic absorption bands corresponding to ester carbonyl, hydroxyl, amino, ether, and aromatic groups (Fig. 1A-D). In the FTIR spectrum of PCPF nanoparticles, the characteristic peaks of all constituent components were simultaneously observed (Fig. 1E). After loading of PTX and siRNA, the appearance of additional bands and variations in peak intensities were detected. Specifically, characteristic bands corresponding to the carbonyl and aromatic groups of PTX, as well as phosphate-related bands attributed to siRNA, were observed in the spectra (Fig. 1 F-H).

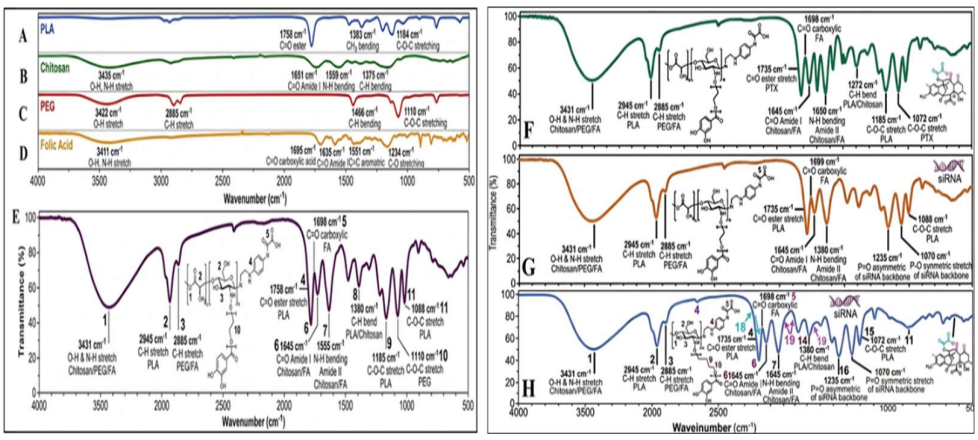


Figure 1: FTIR spectra of nanoparticles A) PLA, B) chitosan, C) PEG, D) folic acid, and E) PCPF nanoparticles, F) PCPF/PTX, G) PCPF/siRNA, and H) PCPF/PTX/siRNA, respectively.

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]

DLS

DLS Analysis

Based on DLS results (**Table 1**), the smallest and largest nanoparticles were PCPF (162±6 nm) and PCPF/siRNA/PTX (256±11 nm), respectively. Encapsulation of PTX and siRNA increased particle size. Zeta potential analysis showed that most formulations were negatively charged except PCPF/PTX. The most negative value was observed for PCPF/siRNA (-11.6 ± 0.7 mV). At the same time, PTX reduced the surface charge. Regarding the PDI, it increased from 0.32 in PCPF to 0.49 in PCPF/siRNA/PTX, indicating a progressive increase in heterogeneity and particle size distribution upon drug and siRNA loading.

Table 1: Size, zeta potential, and particle dispersion index (PDI) of synthesized nanoparticles

Nanocapsule type	Size (nm)	Standard deviation	Zeta potential (mV)	Standard deviation	PDI	Standard deviation
PCPF	162	± 6	-4.14	± 0.34	0.32	± 0.08
PCPF/siRNA	181	± 7	-6.11	± 0.17	0.43	± 0.07
PCPF/PTX	199	± 12	+1.54	± 0.52	0.41	± 0.05
PCPF/siRNA/PTX	256	± 11	-1.50	± 0.50	0.49	± 0.09

Drug and siRNA Release Profile

The release behavior of PTX and siRNA from the synthesized nanocapsules was evaluated under physiological (pH=7.4) and acidic tumor-mimicking (pH=5.0) conditions. A biphasic release pattern was observed, consisting of an initial rapid release followed by a sustained release phase. Both PTX and siRNA exhibited significantly higher release rates under acidic conditions than at physiological pH (Fig. 2-A, B).

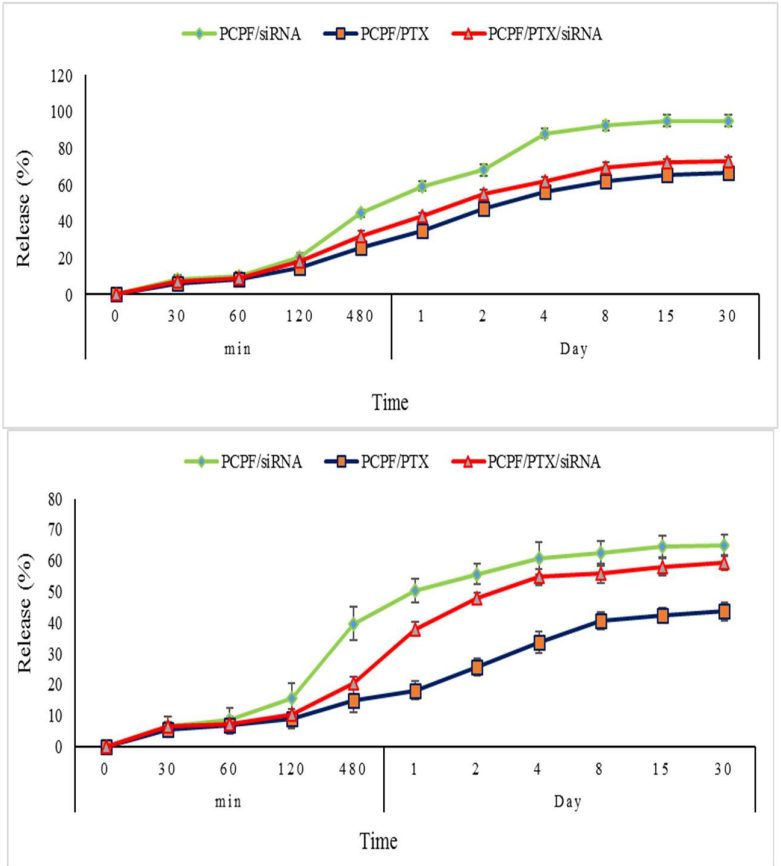


Figure 2: siRNA and PTX release graphs from different NPs in PBS buffer with A) pH=4.7 and B) pH=5

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]

Selectivity Index (SI)

Among all formulations, PCPF/PTX/siRNA exhibited the highest selectivity index (SI = 1.81), indicating superior selective toxicity toward MCF-7 cancer cells compared with MCF-10A normal cells. Free PTX showed the lowest SI (1.08) due to its toxicity toward normal cells (Table 2). PCPF/PTX displayed moderate selectivity (SI = 1.43), whereas PCPF and PCPF/siRNA showed no selective anticancer activity (SI = 1).

Table 2: Selectivity index of synthesized nanocapsules and free PTX
***Different letters indicate significant differences (at the 5% probability level) between treatments at each of the time points studied.**

Treatment	IC_{50} (MCF-7)	IC_{50} (MCF-10A)	SI
PCPF	>400 [a]	>400 [a]	1
PCPF/siRNA	>400 [a]	>400 [a]	1
PCPF/PTX	278.45 [c]	>400 [a]	1.43
PCPF/siRNA/PTX	221.34 [b]	>400 [a]	1.81
PTX	186.14 [d]	201.45 [b]	1.08

Cellular Apoptosis

PCPF/PTX/siRNA induced the highest percentages of early and late apoptotic MCF-7 cells (25.32% and 19.85%, respectively), significantly exceeding all other treatments. In contrast, free PTX produced the highest necrotic cell population (30.59%) (Fig. 3).

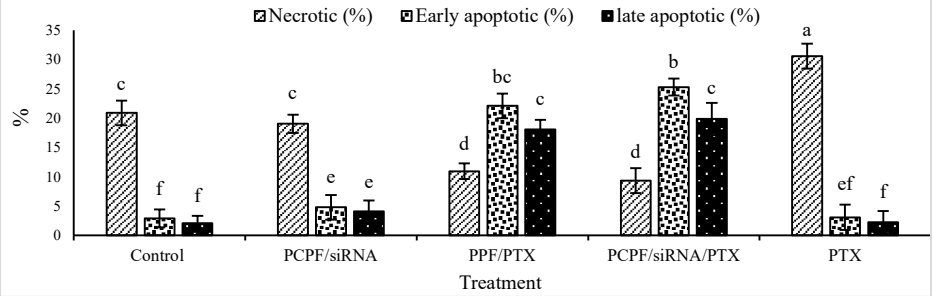


Figure 3: Percentage of necrotic MCF-7 cells, before and after apoptosis, affected by IC_{50} concentrations of PCPF/siRNA, PCPF/PTX, PCPF/siRNA/PTX NPs, and free PTX

Discussion

The folic acid-functionalized PLA/Chitosan/PEG nanocarrier exerts its therapeutic effect through a synergistic integration of active targeting and co-delivery of PTX and siRNA, rather than isolated contributions of each component. Mechanistically, PTX disrupts microtubule dynamics, leading to G2/M cell cycle arrest and activation of mitochondria-mediated apoptotic pathways (7). In parallel, siRNA suppresses the expression of genes involved in cell survival and drug resistance, thereby attenuating anti-apoptotic signaling and enhancing tumor cell susceptibility to chemotherapeutic stress (8). The convergence of these pathways results in disruption of cellular survival networks and a reduced apoptotic threshold.

Importantly, previous studies have similarly reported that co-delivery of PTX and siRNA enhances anticancer efficacy by overcoming drug resistance and promoting apoptosis (9), which is in agreement with the findings of the present study.

Furthermore, folate receptor-mediated targeting significantly improves intracellular delivery efficiency. Due to the overexpression of folate receptors on MCF-7 cells, the nanocarrier is preferentially internalized via receptor-mediated endocytosis, thereby enhancing intracellular accumulation of both therapeutic agents. This observation is consistent with earlier reports demonstrating improved cellular uptake and selectivity of folate-functionalized nanocarriers (10).

Overall, the combined effect of active targeting and synergistic drug–gene interaction enhances

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]

mitochondria-dependent apoptosis and improves the therapeutic index, highlighting the superiority of this multifunctional nanoplatform for breast cancer therapy.

Conclusion

The folic acid-functionalized PLA-PEG nanoparticles demonstrated pH-responsive co-delivery of PTX and siRNA, suggesting a promising strategy for enhancing selective anticancer efficacy under in vitro conditions. The reduced viability of MCF-7 cells compared to MCF-10A cells indicates potential cancer-selective cytotoxicity; however, these results are limited to in vitro experiments and should therefore be interpreted with caution. The increased apoptotic response further supports a potential synergistic interaction between PTX and siRNA within the nanocarrier system. Nevertheless, the lack of direct evaluation of gene knockdown efficiency represents a key limitation of this study, as the molecular contribution of siRNA could not be fully quantified. From a translational perspective, although the present findings highlight the potential of this targeted nanoplatform, further in vivo studies are required to assess biodistribution, pharmacokinetics, tumor accumulation, and systemic safety. In addition, validation of gene-silencing efficiency and long-term therapeutic outcomes will be essential for establishing its clinical relevance. Overall, these findings suggest that the developed multifunctional nanocarrier may serve as a potential platform for targeted breast cancer therapy, pending further preclinical validation.

References

1. Ahmad A. Breast cancer statistics: recent trends. Breast cancer metastasis and drug resistance: challenges and progress. 2019:1-7. doi: org/10.1007/978-3-030-20301-6-1
2. Mosleh-Shirazi S, Abbasi M, Reza Moaddeli M, Vaez A, Shafiee M, Kasaee SR, et al. Nanotechnology advances in the detection and treatment of cancer: an overview. Nanotheranostics. 2022;6(4):400. doi:org/10.7150/ntno.74613.
3. Mohajeri S, Yaghoubi H, Bourang S, Noruzpour M. Multifunctional magnetic nanocapsules for dual delivery of siRNA and chemotherapy to MCF-7 cells (Breast cancer cells). Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. 2025:1-23. doi: org/10.1007/s00210-025-04381-8.
4. Abebe DG, Kandil R, Kraus T, Elsayed M, Merkel OM, Fujiwara T. Three-layered biodegradable micelles prepared by two-step self-assembly of PLA-PEI-PLA and PLA-PEG-PLA triblock copolymers as efficient gene delivery system. Macromolecular bioscience. 2015;15(5):698-711. doi: org/10.1002/mabi.201400488
5. Mohajeri S, Dashti S, Noruzpour M, Bourang S, Yaghoubi H. Design and preparation of PLA-chitosan-PEG-glucose copolymer for combined delivery of Paclitaxel and siRNA. Discover Applied Sciences. 2025;7(8):801. doi: org/10.1007/s42452-025-07458-4.
6. Kesharwani P, Halwai K, Jha SK, Al Mughram MH, Almujri SS, Almalki WH, et al. Folate-engineered chitosan nanoparticles: next-generation anticancer nanocarriers. Molecular Cancer. 2024;2(1):244. doi: org/10.1186/s12943-024-02163-z
7. Biswas P, Dey D, Biswas PK, Rahaman TI, Saha S, Parvez A, et al. A Comprehensive Analysis and Anti-Cancer Activities of Quercetin in ROS-Mediated Cancer and Cancer Stem Cells. Int J Mol Sci. 2022;23(19):11746. doi:org/10.3390/ijms231911746
8. Sritharan S, Guha S, Hazarika S, Sivalingam N. Meta analysis of bioactive compounds, miRNA, siRNA and cell death regulators as sensitizers to doxorubicin induced chemoresistance. Apoptosis. 2022;27(9-10):622-46. doi: org/10.1007/s10495-022-01742-z.
9. Zhang L, Cao X, Chen J, Dong Y, Chen W, Gao Y, et al. Co-delivery of siBcl-2 and PTX with mitochondria-targeted functions to overcoming multidrug resistance. International Journal of Pharmaceutics. 2024:654.
10. Ahmadi M, Ritter CA, von Woedtke T, Bekeschus S, Wende K. Package delivered: folate receptor-mediated transporters in cancer therapy and diagnosis. Chem Sci. 2024;15(6):1966-2006. doi: org/10.1039/d3sc05539f.

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]

مقاله پژوهشی

مجله علمی
بیماری‌های پستان ایران
۱۴۰۵؛۱۹(۲):۵۳-۷۶

تحویل هدفمند و همزمان پاکلی‌تاکسل و *siRNA* به کمک نانوذرات کوپلیمری *PLA–Chitosan–PEG–Folic acid* جهت درمان سلول‌های سرطانی پستان *MCF-7*

هاشم یعقوبی[1]✉، محمد ضعیفی‌زاده[2]

[1]گروه زیست شناسی، واحد اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی، اردبیل، ایران
[2]مرکز تحقیقات طب سنتی و آب درمانی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

تاریخ ارسال: ۱۴۰۴/۰۸/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۳/۱۳

* نویسنده مسئول:
yaghoubi_h@iau.ac.ir

چکیده

مقدمه: فناوری نانو از طریق طراحی سیستم‌های دارورسانی هوشمند، چالش دارورسانی هدفمند و اسیدهای نوکلئیک به سلول‌های سرطانی را برطرف می‌کند. این رویکرد، دقت و کارایی بهبود یافته در دارورسانی عوامل درمانی را ممکن می‌سازد. این مطالعه بر طراحی و ارزیابی یک نانوحامل چندمنظوره مبتنی بر PLA/Chitosan/PEG عامل‌دار شده با اسید فولیک (FA) با قابلیت هدف‌گیری تومور و دارورسانی هم افزایی پاکلی‌تاکسل (PTX) و siRNA به سلول‌های سرطان سینه (MCF-7) تمرکز دارد که هدف آن افزایش جذب انتخابی و کارایی درمانی در مقایسه با سیستم‌های دارورسانی مرسوم است.

روش بررسی: سنتز نانوذرات PCPF (PLA/Chitosan/PEG/FA) به کمک روش پیونددهی شیمیایی و فرآیند حل-در-حلال انجام شد. سپس دارو PTX و siRNA برعلیه ژن Survivin با روش انتشار حلال همراه با امولسیون چندمرحله‌ای در نانوذرات PCPF بارگذاری شدند. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و مورفولوژی نانوذرات و نانوکپسول‌های سنتز شده از طریق ^{1}H-NMR، FTIR و DLS بررسی شد. پس از بررسی تأثیر pH های مختلف (۵ و ۷/۴) بر رهایش محموله‌ها، سمیت سلولی نانوکپسول‌ها با آزمون MTT و آپوپتوز با روش Annexin V/PIدر رده‌های MCF-7 و MCF-10A ارزیابی شد. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از ANOVA یک‌طرفه و آزمون دانکن (SPSS 22، سطح معنی‌داری ۵ درصد) انجام شد.

یافته‌ها: نتایج آنالیز ^{1}H-NMR و FTIR تشکیل موفقیت‌آمیز نانوذرات PCPF را تأیید کرد. طبق نتایج حاصل از DLS مشخص شد که اندازه نانوذرات از ۶±۱۶۲ نانومتر برای PCPF تا ۱۱±۲۵۶ نانومتر برای PCPF/siRNA/PTX متغیر بود. هم‌چنین مشخص شد که بارگذاری PTX و siRNA اندازه و PDI نانوذرات را افزایش داد و پتانسیل زتا عمدتاً منفی مشاهده شد. مطالعات رهایش، نشان داد رهایش PTX و siRNA در pH اسیدی (۵) به‌طور قابل‌توجهی بیشتر از pH خنثی (۷/۴) بود. آزمون MTT، سمیت انتخابی نانوذرات حاوی PTX و siRNA را علیه سلول‌های سرطانی MCF-7 و کاهش عوارض بر سلول‌های سالم MCF-10A در مقایسه با داروی آزاد، را اثبات کرد. هم‌چنین نتایج آپوپتوز سلولی نشان داد که بیشترین میزان پیش و پس‌آپوپتوز سلولی (به ترتیب ۲۵/۳۲ و ۱۹/۸۵ درصد) برای سلول‌های MCF-7 مربوط به نانوکپسول‌های PCPF/siRNA/PTX بود، در حالی که بیشترین درصد سلول‌های واقع در مرحله نکروز (۳۰/۵۹ درصد) مربوط به PTX آزاد بود.

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی، نانوذرات PCPF مبتنی بر PLA-PEG و هدفمندشده با فولیک‌اسید، با رهش کنترل‌شده وابسته به pH و زیست‌سازگاری مطلوب، سمیت انتخابی و القای غالب آپوپتوز را نشان داده و از طریق انتقال همزمان PTX/siRNA، به‌طور معنی‌داری موجب افزایش اثر سینرژیستی درمانی در سلول‌های سرطانی شدند.

واژه‌های کلیدی: آپوپتوز سلولی، پاکلی‌تاکسل، انتقال همزمان دارو و ژن به سلول، رهایش کنترل‌شده دارو و ژن، نانوذرات پلیمری و MCF-7.

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]

مقدمه

سرطان به عنوان یکی از اصلی‌ترین عوامل مرگ‌ومیر در جهان، به مجموعه‌ای از بیماری‌ها اطلاق می‌شود که با تکثیر و گسترش غیرقابل کنترل سلول‌های غیرطبیعی شناخته می‌شوند. در این میان، سرطان پستان شایع‌ترین نوع سرطان تهاجمی در زنان محسوب می‌شود که در سلول‌های پوشاننده مجاری یا لوبول‌های پستان نشأت می‌گیرد (۱). رویکردهای درمانی مرسوم برای این بیماری شامل جراحی برای برداشتن بافت سرطانی، پرتودرمانی برای نابودی سلول‌های بدخیم موضعی، شیمی‌درمانی سیستمیک، هورمون‌درمانی و درمان‌های هدفمند است (۲). با این حال، این روش‌ها اغلب با چالش‌هایی جدی از قبیل عوارض جانبی گسترده، آسیب به بافت‌های سالم و مقاومت دارویی مواجه هستند (۳). در این زمینه، نانوتکنولوژی با ارائه راهکارهای نوین، تحولی اساسی در عرصه درمان سرطان ایجاد کرده است. این فناوری با طراحی و مهندسی مواد در مقیاس نانومتر (۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر)، امکان هدف‌گیری هوشمند سلول‌های سرطانی را فراهم می‌نماید (۴). به‌طور مشخص، نانوحامل‌های دارویی با پوشش‌های اختصاصی، قادر به انتقال مستقیم عوامل شیمی‌درمانی به درون تومور هستند، که این امر ضمن افزایش غلظت دارو در ناحیه هدف، مواجهه بافت‌های سالم با سمیت دارو را به حداقل می‌رساند (۲). نانوتکنولوژی به عنوان دانش کنترل و دستکاری ماده در ابعاد اتمی و مولکولی تعریف می‌شود که به دلیل نسبت سطح به حجم بسیار بالا، خواص فیزیکوشیمیایی منحصر به فردی را در مواد ایجاد می‌کند (۵). نانوتکنولوژی با غلبه بر موانع اصلی در انتقال قطعات ژنتیکی نظیر DNA و انواع RNAها، انقلابی عظیم در زمینه ژن درمانی ایجاد کرده است (۷).

siRNAبه عنوان یک ابزار درمانی قدرتمند، قادر به خاموش کردن ژن‌های بیماری‌زا در سطح mRNA است، اما به دلیل ناپایداری در جریان خون و ناتوانی در عبور از غشای سلولی، کاربرد بالینی آن با محدودیت مواجه بوده است (۸). ژن Survivin (BIRC5) یکی از اعضای خانواده پروتئین‌های مهارکننده آپوپتوز است که نقش کلیدی در جلوگیری از مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی و تنظیم چرخه سلولی ایفا می‌کند. بیان بیش از حد این ژن در بسیاری از سلول‌های سرطانی، از جمله سرطان پستان، با افزایش تکثیر سلولی و مقاومت به درمان‌های شیمی‌درمانی مرتبط است. از سویی دیگر، پاکلی‌تاکسل (PTX) که در زمره مهم‌ترین داروهای شیمی‌درمانی قرار دارد، یک عامل ضد میکروتوبول و از دسته تاکسان‌ها است که نقشی حیاتی در درمان سرطان پستان، به‌ویژه انواع سرطان متاستاتیک و مقاوم به درمان ایفا می‌کند (۱۰). مکانیسم عمل اصلی این دارو، تثبیت و جلوگیری از تخریب میکروتوبول‌ها طی فرآیند میتوز است، که منجر به توقف چرخه سلولی در فاز G2/M می‌شود. این توقف اجباری در تقسیم سلولی، در نهایت مسیرهای سیگنال‌دهی مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی (آپوپتوز) را فعال می‌سازد و سلول‌های سرطانی را از بین می‌برد (۱۱). اهمیت ویژه پاکلی‌تاکسل در مهار تقسیم سلول‌های سرطانی با نرخ تکثیر بالا که ویژگی شاخص تومورهای مهاجم پستان است (۱۲). با وجود چالش‌هایی مانند مقاومت دارویی و عوارض جانبی، این دارو هم‌چنان به عنوان یک جزء اساسی در بسیاری از رژیم‌های درمانی استاندارد و نئوادجوانت سرطان پستان باقی مانده است (۱۳). پلی‌لاکتیک‌اسید (PLA) به عنوان حامل‌های نانومتری زیست‌تخریب‌پذیر و زیست‌سازگار، جایگاهی برجسته در سیستم‌های نوین دارورسانی و ژن‌درمانی یافته‌اند. این نانوذرات به دلیل سازگاری زیستی بالا و قابلیت تخریب متابولیکی در بدن به محصولات طبیعی مانند اسیدلاکتیک و آب، فاقد سمیت سیستمیک بوده و برای کاربردهای بالینی ایده‌آل هستند (۱۴). در حوزه انتقال دارو، PLA با انکپسوله کردن طیف وسیعی از مولکول‌های درمانی (از داروهای با حلالیت پایین تا عوامل بیولوژیک)، رهایش کنترل‌شده و هدفمندی را در بافت‌های خاص امکان‌پذیر می‌سازند. به طور ویژه در انتقال قطعات ژنی مانند پلاسمیدهای DNA و siRNA، این نانوذرات با محافظت از محموله ژنی در برابر تخریب نوکلئازی و تسهیل اندوسیتوز سلولی، کارایی ترانسفکشن را به میزان قابل توجهی افزایش می‌دهند (۱۵). از سویی دیگر، کیتوسان که یک پلی‌ساکارید طبیعی و زیست‌تخریب‌پذیر است و از دِاستیله شدن کیتین موجود در پوسته سخت‌پوستان حاصل می‌شود، به دلیل بار مثبت ذاتی، امکان اتصال الکترواستاتیک با بار منفی غشای سلولی و DNA را فراهم می‌سازد (۱۶). هم‌چنین پلی‌اتیلن‌گلایکول (PEG) یک پلیمر مصنوعی، خنثی، آب‌دوست و زیست‌سازگار است که در فرآیند PEGylation سنتز می‌شود، برای اصلاح سطح نانوحامل‌ها به کار می‌رود (۱۶). زمانی که کیتوسان با

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]

PEG پوشش داده می‌شود، یک ساختار نانوکامپوزیتی تشکیل می‌دهد که پایداری ذره در جریان خون را به طور چشم‌گیری افزایش داده و شناسایی آن توسط سیستم رتیکولوآندوتلیال (RES) را به تأخیر می‌اندازد (۱۷). امروزه کاربرد لیگاندهای هدفمند بر سطح نانوذرات به عنوان یک راهبرد اساسی در دارورسانی هدفمند سرطان مورد توجه قرار گرفته است. این لیگاندها قادر به شناسایی و اتصال اختصاصی به گیرنده‌های غشایی هستند که در سطح سلول‌های نئوپلاستیک به صورت بیش‌بیان ظاهر می‌شوند. از جمله این گیرنده‌ها می‌توان به گیرنده فولات اشاره نمود که در انواع نئوپلازی‌ها از جمله کارسینوم پستان و تخمدان، با تراکم بالایی مشاهده می‌شود (۱۸). عامل‌دار نمودن نانوذرات با لیگاندهایی نظیر اسیدفولیک، امکان هدف‌گیری فعال و اندوسیتوز وابسته به گیرنده را در سلول‌های سرطانی فراهم می‌سازد. این رویکرد منجر به افزایش معنادار تجمع نانوذرات در بافت توموری و کاهش قابل ملاحظه مواجهه سیستمیک با دارو می‌گردد که در نهایت کارایی درمانی را افزایش و عوارض جانبی را تقلیل می‌دهد (۱۹). هدف از این پژوهش طراحی و سنتز یک سامانه نانوحامل هوشمند مبتنی بر کوپلیمرهای PLA/PEG و کیتوسان عامل‌دارشده با فولیک‌اسید با توانایی انتقال هدفمند داروی PTX و siRNA به‌صورت هم‌زمان به سلول‌های سرطان پستان MCF-7 است. هدف اصلی پژوهش نیز شامل سنتز و بهینه‌سازی نانوذرات و بررسی سیستماتیک ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی کلیدی نظیر اندازه، پتانسیل زتا و مورفولوژی نانوذرات سنتز شده است. از سویی دیگر، هدف کاربردی در این پژوهش نیز بررسی زیست‌سازگاری و سمیت سلولی، تحلیل سینتیک و مکانیسم رهایش PTX و siRNA در شرایط شبیه‌سازی‌شده فیزیولوژیک و توموری و تعیین کارایی هدف‌گیری اختصاصی گیرنده‌های فولات می‌باشد. در انتها، پژوهش به شناسایی کارآمدترین نانوحامل با بیشترین بازدهی انتقال و حداقل سمیت بر سلول‌های سالم به‌عنوان یک راهبرد نوین برای درمان هدفمند سرطان پستان متمرکز است.

مواد و روش‌ها

مواد

کلرید پتاسیم (KCl)، متیل‌سولفوکسید، اتانول، کیتوسان، هیدروکلرید اسید (HCL)، دی پتاسیم فسفات (KH_2PO_4)، کلروفرم، NH_2-PEG-FA و هیدروکسید سدیم (NaOH) از شرکت مرک (آلمان) خریداری شدند. هم‌چنین پارافرمالدهید از آزمایشگاه شیمی دکتر موجال (ایران) تهیه شد. سرم جنین گاوی (FBS)، سرم اسب، محیط کشت‌های DMEM و DMEM/F12 و تریپسین-EDTA از شرکت Biowest (ایالات متحده آمریکا) خریداری شدند. انسولین، هیدروکورتیزون، پنی‌سیلین و استرپتومایسین از شرکت کیا پژوهش گستر تهیه شد.

سنتز نانوذرات PLA-Chitosan-PEG-FA (PCPF)

برای این منظور ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم کیتوسان (جرم مولی ۵۰۰۰۰ دالتون و درجه دِاستیله شده ۹۰ درصد) در ۲۰ میلی‌لیتر محلول اسید استیک ۱ درصد (جرمی/حجمی) حل شد. به طور همزمان، ۵۰ میلی‌گرم PEG (۲۰۰۰ دالتون) عامل‌دار شده با اسیدفولیک در حضور ۲۵ میلی‌گرم EDC و ۱۵ میلی‌گرم NHS در ۱۰ میلی‌لیتر DMSO فعال‌سازی گردید. پس از ۲ ساعت و فعال‌سازی در دمای ۲۵ °C، محلول PEG-FA فعال به آرامی به محلول کیتوسان اضافه شده و pH محیط با NaOH (یک مولار) به ۵/۵ تنظیم شد. واکنش به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۰ °C تحت همزدن مداوم با سرعت ۵۰۰ دور بر دقیقه ادامه یافت. محصول خام ابتدا با اتانول سرد رسوب‌دهی شده و سپس به مدت ۴۸ ساعت در مقابل آب دیونیزه (با استفاده از غشای دیالیز) دیالیز شد. در نهایت، محصول نهایی به کمک دستگاه (LMC-2, Rubarth, Germany) انجماد خشک شد. جهت سنتز نانوذرات PCPF ابتدا ۳۰ میکرومول Chitosan-PEG-FA و ۱۰ میکرومول اکریلات-PLA به صورت جداگانه در ۳ میلی-لیتر کلروفرم حل شدند. سپس محلول کلروفرم حاوی Chitosan-PEG-FA به صورت قطره‌ای به محلول کلروفوم آکریلات-PLA در دمای ۴۰ الی ۴۵ °C اضافه شده و به مدت ۲۴ ساعت تحت هم‌زده مکانیکی قرار گرفتند. خالص‌سازی نانوذرات PCPF نیز از طریق فرآیند دیالیز در برابر آب دیونیزه به مدت ۲ روز با جایگزین کردن آب در هر ۶ ساعت انجام شد. سرانجام، محصول با استفاده از دستگاه (LMC-2, Rubarth, Germany) انجماد خشک شد (۱۶).

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]

تهیه نانوکپسول‌های PCPF/PTX، PCPF/siRNA و PCPF/PTX/siRNA

جهت سنتز نانوکپسول‌های PCPF/PTX/siRNA که به کمک تکنیک انتشار حلال تهیه شدند، ابتدا به ۴ میلی‌لیتر محلول کلروفرم، ۲۰ میلی‌گرم کوپلیمر PCPF و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول آبی حاوی ۲۵۰ میکروگرم siRNA و ۱ میلی‌گرم پاکلی‌تاکسل اضافه شده و به مدت ۲ دقیقه سونیکه (۳۰ KH و بازه زمانی ۵ ثانیه) شد. سپس ۶ میلی‌لیتر محلول PVA یک درصد به سوسپانسیون حاصل اضافه شده و به مدت دو دقیقه دیگر سونیکه شد. سپس ۳۰ میلی‌لیتر محلول PVP ۰/۳ درصد اضافه شد. پس از ۵ ساعت، کلروفرم اضافی به کمک سانتریفیوژ (۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه) جدا شد. نانوکپسول‌های حاصل با استفاده از سانتریفیوژ (۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه) جمع‌آوری شدند. در انتها نانوکپسول‌های حاصل به کمک انجماد خشک، خشک شده و برای استفاده در آزمایش‌های مختلف در دمای C ° ۲۰- نگهداری شدند (۲۰). هم‌چنین جهت سنتز نانوکپسول‌های PCPF/PTX و PCPF/siRNA از PTX یا siRNA به تنهایی استفاده شد.

تعیین مشخصات فیزیکوشیمیایی نانوذرات

ویژگی‌های ساختاری و تأیید ترکیبات موجود در نانوذرات سنتز شده PCPF توسط طیف‌سنجی تشدید مغناطیسی هسته‌ای هیدروژن (^{1}H-NMR) در حلال D_2O حاوی مقدار کمی اسیداستیک استفاده شد. هم‌چنین جهت تأیید وجود گروه‌های عملکردی نانوذرات از طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) و با استفاده از روش قرص‌های KBr در منطقه cm^{-1} ۴۰۰۰ -۵۰۰ با استفاده از دستگاه ABB Bomem MB100 FTIR spectrometer انجام شد. هم‌چنین اندازه متوسط نانوذرات و پتانسیل زتا آن‌ها با استفاده از پراکندگی نور پویا (DLS, Malvern Instruments, Westborough, USA) تعیین شد.

تهیه توالی siRNA

جهت بارگذاری siRNA، از siRNA اختصاصی علیه ژن Survivin (BIRC5) استفاده شد. توالی siRNA به شرح زیر بود:

توالی سنس: ´۵ -GCAUUCGUCUCCACUUGCATT- ´۳

توالی آنتی‌سنس: ´۵ -UGCAAGUGGAGACGAAUGCTT- ´۳

این siRNA از شرکت Santa Cruz Biotechnology (به شماره sc-29499) تهیه گردید.

بازدهی بارگذاری داروی PTX و siRNA از نانوکپسول‌های سنتز شده

بازدهی انکپسولاسیون داروی PTX و siRNA در نانوکپسول‌ها با اندازه‌گیری مقدار PTX یا siRNA که در نانوذرات، انکپسوله نشده تعیین شد. بنابراین، مقدار PTX یا siRNA موجود در مایع رویی لوله آزمایش، پس از سانتریفوژ سوسپانسیون نانوذرات توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در ۲۳۰ نانومتر (برای داروی PTX) و ۲۶۰ نانومتر (برای siRNA) اندازه‌گیری شد. سپس مقدار PTX یا siRNA موجود در مایع رویی با مقدار کل PTX یا siRNA استفاده شده در فرآیند انکپسولاسیون مقایسه شد (۱۹).

بازدهی PTX یا siRNA به شرح زیر تعیین شد (معادله ۱):

$$\text{(درصد بازدهی انکپسولاسیون)} = \frac{\text{مقدار siRNA یا PTX مورد استفاده برای تهیه نانوذرات} - \text{مقدار } siRNA \text{ یا } PTX \text{ در مایع رویی}}{\text{مقدار } siRNA \text{ یا } PTX \text{ مورد استفاده برای تهیه نانوذرات}} \times ۱۰۰ \quad \text{(معادله ۱)}$$

سینتیک آزادسازی دارو و ژن

برای مقایسه سینتیک انتشار PTX یا siRNA بین نانوکپسول‌ها، نانوذرات حاوی PTX یا siRNA همانطور که در بالا توضیح داده شد تهیه شدند. سپس آزمایشات در دو محیط مختلف با pH متفاوت (pH=۷/۴ محیط اطراف سلول‌های سالم) و (pH=۴/۵ محیط اطراف سلول‌های سرطانی) انجام شد. برای تعیین سینتیک آزادسازی، نانوکپسول‌ها به طور جداگانه در ۱۰ میلی‌لیتر بافر استات-سدیم (pH=۵) و محلول گلوکز ۵ درصد (pH=۷/۴) در C ° ۳۷ انکوبه شدند. در فواصل زمانی برنامه‌ریزی شده (هر ۳۰ دقیقه تا ۳ روز)، پس از سانتریفیوژ (۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و ۳۰ دقیقه)، مایع رویی نمونه‌ها برای سنجش آزادسازی جمع‌آوری شد. سپس، تا بازه زمانی بعدی، نانوذرات در ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت تازه، مجددا به حالت سوسپانسیون

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]

درآمدند. سرانجام، مقدار PTX (در طول موج ۲۳۰ نانومتر) یا siRNA (در طول موج ۲۶۰ نانومتر) آزاد شده در مایع رویی نانوذرات، توسط دستگاه اسپکتوفتومتری اندازه‌گیری و با میزان PTX یا siRNA مورد استفاده درفرآیند بارگیری مقایسه گردید. سرانجام داده‌های حاصل از این آزمایش به کمک مدل سینتیکی Korsmeyer-Peppas مورد تحلیل قرار گرفتند، تا مکانیسم آزادسازی دارو مشخص شود (۲۱). از معادله زیر جهت محاسبه‌ی میزان رهایش محموله‌ها استفاده شد:

$$\text{درصد انتشار تجمعی (معادله۲)} = \frac{Dr^{t} + Dr^{t+1}}{DE}$$

مقدار اندازه‌گیری شده محموله (PTX یا siRNA) در مایع رویی در هر زمان (t): Dr^{t}

مقدار اندازه‌گیری شده محموله (PTX یا siRNA) در مایع رویی در زمان(t+1): Dr^{t+1}

مقدار محموله (PTX یا siRNA) محصور شده در نانوذرات DE:

کشت سلولی

تهیه سلول‌های مورد آزمایش

دو رده سلولی استفاده شده در این مطالعه شامل MCF-7 (™ATCC®HTB-22) و (-™ATCC®CRL 10317) MCF-10A بودند که هر دو از بانک سلولی مرکز ملی ذخایر سلولی ایران (NCBI) تأمین شدند. MCF-7 یک رده سلولی سرطان پستان انسانی است که به طور گسترده برای بررسی اثربخشی داروها و مکانیسم‌های سلولی در سرطان مورد استفاده قرار می‌گیرد، این در حالیست که MCF-10A یک رده اپیتلیال طبیعی پستان انسان است که برای ارزیابی سمیت انتخابی و زیست‌سازگاری نانوذرات مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف از استفاده از سلول‌های سالم در این پژوهش، ایجاد یک گروه شاهد معتبر برای ارزیابی انتخاب‌گری و سمیت ذاتی نانوذرات بود. این رویکرد امکان مقایسه مستقیم اثرات سمیت نانوذرات بر سلول‌های سرطانی در مقابل سلول‌های طبیعی را فراهم کرد. بدین‌ترتیب، توانایی سیستم دارورسانی در هدف‌گیری انتخابی سلول‌های سرطانی به‌طور دقیق مورد بررسی قرار گرفت.

کشت سلول‌های سالم MCF-10A

برای این منظور ابتدا سلول‌های MCF-10A در محیط کشت DMEM/F-12 تکمیل شده با ۵ درصد سرم اسب، ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر انسولین، ۲۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر فاکتور رشد اپیدرمی، ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر هیدروکورتیزون، ۱۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر پنی‌سیلین/ استرپتومایسین و در پلیت‌های ۹۶ چاهکی (۱۰ هزار سلول در هر ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت در هر چاهک) کشت شدند. این سلول‌ها سپس به انکوباتور (۵ درصد CO_2 در دمای ۳۷ °C) به مدت ۲۴ ساعت منتقل شدند.

کشت لاین‌های سلول‌های سرطانی MCF-7

برای این منظور ابتدا سلول‌های MCF-7 در پلیت‌های ۹۶ چاهکی کشت داده شدند (با تراکم ۷×۱۰۳ سلول در هر چاهک حاوی ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت DMEM حاوی ۱۰ درصد FBS و ۱ درصد پنی‌سیلین/ استرپتومایسین). سلول‌ها سپس در شرایط استاندارد (۵ درصد CO_2 در دمای ۳۷ °C) و به مدت ۲۴ ساعت نگه‌داری شدند تا به چسبندگی به بستر و تثبیت رشد اولیه برسند.

مطالعات سمیت سلولی

تست MTT (محاسبه میزان IC_{50})

میزان IC_{50} (غلظتی که موجب مرگ حداقل ۵۰ درصد سلول می‌شود) نانوذرات با استفاده از روش MTT ارزیابی شد. برای این منظور ۲۴ ساعت پس کشت، سلول‌ها (سلول‌های MCF-10A و یا MCF-7) با غلظت‌های مختلف PTX (صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر) و نانوکپسول‌های (صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) حاوی داروی PTX، حاوی تنها siRNA و PTX و siRNA (در ترکیب با یکدیگر) و هم‌چنین نانوکپسول‌های بدون دارو یا ژن (نمونه شاهد) تیمار شده و دوباره انکوبه شدند. پس از ۲۴ ساعت، ۲۰ میکرولیتر محلول MTT (۵ میکروگرم/ میلی‌لیتر در محیط کشت) به هر چاهک اضافه شده و پس از انکوباسیون (۵ ساعت و دمای ۳۷ °C)، مایع رویی برداشته شده و بلورهای فورمازان توسط DMSO (۲۰۰

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]

میکرولیتر در هر چاهک) حل شد. پس از انکوباسیون (۳۰ دقیقه و دمای ۳۷ °C)، جذب نوری در ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه میکروپلیت ریدر (BioTek Instruments, Winooski, VT, USA) اندازه‌گیری شد (۲۲).

شاخص انتخابی (SI)

به‌منظور ارزیابی سمیت انتخابی و پیش‌بینی عوارض جانبی سامانه نانودارویی، شاخص انتخابی (SI) بر اساس معادله ۳ محاسبه شد. مقادیر SI بالاتر از ۱ نشان‌دهنده سمیت ترجیحی بر سلول‌های سرطانی و ایمنی بالاتر سامانه دارورسانی می‌باشند، در حالی که مقادیر کمتر از ۱ بیانگر سمیت بیشتر بر سلول‌های سالم است.

(معادله۳) $$\text{شاخص انتخابی (SI)} = \frac{\text{IC50 سلول‌های نرمال(MCF-10A)}}{\text{IC50 سلول‌های سرطانی(MCF)}}$$

آنالیز آپوپتوز سلولی

آپوپتوز شامل حرکت فسفاتیدیل‌سرین از غشای پلاسمایی داخلی به غشای پلاسمایی خارجی است که آن را با رنگ‌آمیزی فلورسنت مبتنی بر آنکسین قابل تشخیص می‌کند. در این آزمایش جهت تمایز بین آپوپتوز از نکروز، از آنکسین به همراه پروپیدیوم یدید استفاده می‌شود. سلول‌های MCF-7 تیمار شده با نانوکپسول‌های PCPF/PTX، PCPF/siRNA و PCPF/PTX/siRNA و PTX آزاد با استفاده از فلوسایتومتری و کیت Annexin V-Dy634 (Immunostep) و طبق پروتکل تأمین‌کننده، برای آپوپتوز مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. هم‌چنین از سلول‌های تیمار نشده به عنوان کنترل مثبت استفاده شدند. داده‌ها با فلوسایتومتر FACS Verse و نرم‌افزار FlowJoTM نسخه ۱۰ پردازش شدند (۲۳).

تجزیه و تحلیل آماری

هر پارامتر اندازه‌گیری شده در این مطالعه در سه تکرار ارزیابی شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS22 از طریق آنالیز واریانس یک‌طرفه و به دنبال آن آزمون دانکن برای مقایسه‌های چندگانه در آستانه معنی‌داری ۵ درصد انجام شد. توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی شد. نتایج به صورت مقادیر میانگین با انحراف معیار گزارش شده‌اند. مطالعه حاضر توسط کارگروه کمیته اخلاق دانشگاه تبریز (به شماره شناسه IR.IAU.TABRIZ.REC.1401.265) تأیید شد.

یافته‌ها

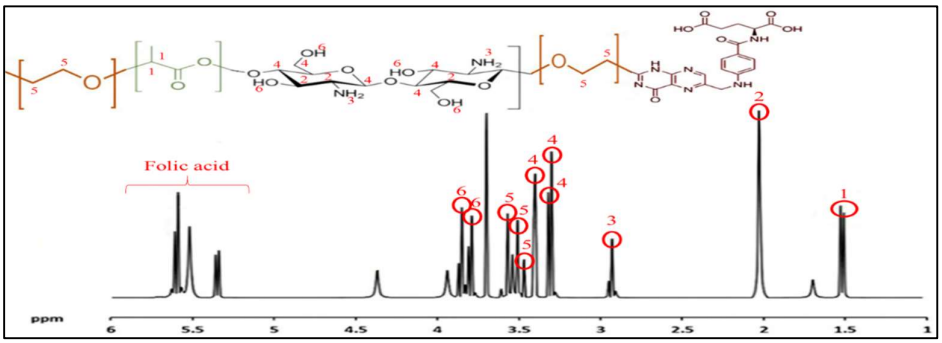
بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و تأیید گروه‌های عاملی نانوذرات

^{1}H-NMR

نتایج حاصل از طیف ^{1}H-NMR نانوذرات PCPF حضور همزمان تمامی اجزای سازنده این نانوذره را به وضوح نشان داد. سیگنال‌های مشخصه مربوط به واحدهای متیل و متیلن PLA به‌ترتیب در محدود ۱/۶ و ۱/۸ ppm مشاهده شدند (اندیس۱-درشکل۱). هم‌چنین، وجود چندین پیک متوسط در محدوده ۳/۵ الی ۳/۷ ppm، مربوط به پروتون‌های گروه متیلن در واحدهای تکراری PEG است، که به‌صورت کووالانسی به ساختار اصلی متصل شده بود (اندیس۵-درشکل۱). علاوه‌براین، سیگنال‌های متعدد در محدوده ۳ الی ۳/۵ ppm مربوط به پروتون‌های حلقه گلوکز در کیتوسان بود (اندیس۴-درشکل۱). یک شاهد کلیدی برای تشکیل پیوند کووالانسی، تغییرات آشکار در ناحیه ۲/۸ الی ۳/۱ ppm است، که نشان‌دهنده استفاده از گروه‌های آمین اولیه کیتوسان و تشکیل پیوندهای آمید جدید در طی فرآیند کوپلینگ با کوپلیمر PLA-PEG و فولیک‌اسید است (اندیس۳-درشکل۱). هم‌پوشانی و حضور همزمان این سیگنال‌ها در یک طیف، تشکیل موفقیت‌آمیز کونژوگه هدف را به‌طور قطعی اثبات می‌کند. هم‌چنین مجموعه‌ای از سیگنال‌های چندتایی در ناحیه آروماتیک (۵/۳ الی ۵/۷ ppm)، حضور موفقیت‌آمیز لیگاند فولیک-اسید را در کونژوگه نهایی تأیید کرد.

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]



شکل۱: طیف ^{1}H-NMR نانوذره PCPF

Figure 1: ^{1}H-NMR spectrum of PCPF nanoparticles

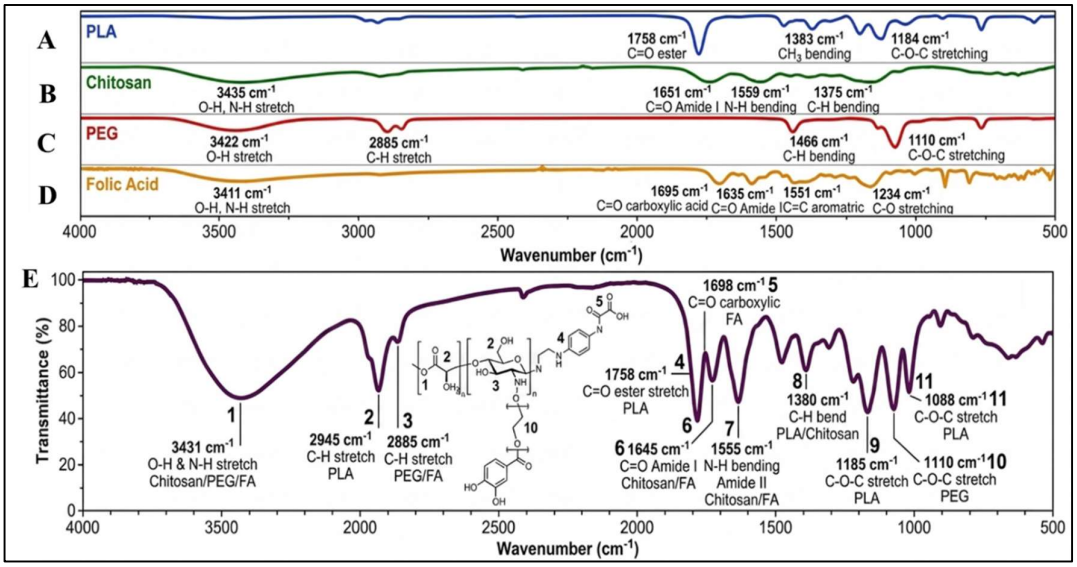
FTIR

طیف‌سنجی FTIR به‌منظور شناسایی گروه‌های عاملی و بررسی برهم‌کنش‌های مولکولی و تغییرات ساختاری ناشی از کونژوگاسیون اجزای تشکیل‌دهنده نانوذرات PCPF انجام شد. به‌منظور ارزیابی تشکیل ساختار نهایی، ابتدا طیف FTIR هر یک از مواد اولیه شامل PLA، کیتوسان، PEG و فولیک‌اسید FA ثبت و سپس با طیف نانوذرات سنتزشده مقایسه شد (شکل۲). در طیف PLA (شکل۲-A)، پیک شاخص و قوی در cm^{-1} ۱۷۵۸ به ارتعاش کششی گروه کربونیل استری (C=O) نسبت داده شد که از مهم‌ترین مشخصه‌های ساختاری این پلیمر محسوب می‌شود. هم‌چنین پیک‌های مشاهده‌شده در ۱۳۸۳ و cm^{-1} ۱۱۸۴ به‌ترتیب مربوط به ارتعاشات خمشی گروه‌های متیل و ارتعاش کششی متقارن پیوندهای C-O-C بودند. در طیف کیتوسان (شکل۲-B)، باند پهن و قوی در cm^{-1} ۳۴۳۵ ناشی از هم‌پوشانی ارتعاشات کششی گروه‌های هیدروکسیل و آمینی مشاهده شد، در حالی‌که پیک‌های ۱۶۵۱ و cm^{-1} ۱۵۵۹ به‌ترتیب به ارتعاشات آمید نوع I و آمید نوع II و پیک cm^{-1} ۱۳۷۵ به ارتعاشات خمشی پیوندهای C-H نسبت داده شدند. در طیف PEG (شکل۲-C)، باند پهن cm^{-1} ۳۴۲۲ مربوط به گروه‌های هیدروکسیل انتهایی، پیک cm^{-1} ۲۸۸۵ ناشی از ارتعاش کششی پیوندهای آلیفاتیک C-H، پیک cm^{-1} ۱۴۶۶ مربوط به ارتعاشات خمشی C-H و پیک شاخص cm^{-1} ۱۱۱۰ منتسب به ارتعاش کششی پیوندهای اتر (C-O-C) مشاهده شد که از ویژگی‌های ساختاری این پلیمر هستند. هم‌چنین در طیف فولیک‌اسید (شکل۲-D)، باند پهن cm^{-1} ۳۴۱۱ به ارتعاشات کششی گروه‌های O-H و N-H، پیک‌های ۱۶۹۵ و cm^{-1} ۱۶۳۵ به‌ترتیب به گروه‌های کربونیل اسیدکربوکسیلیک و آمیدی، پیک cm^{-1} ۱۵۵۱ به ارتعاشات حلقه‌های آروماتیک و پیک cm^{-1} ۱۲۳۴ به ارتعاش کششی پیوند C-O نسبت داده شد. طیف FTIR نانوذرات PCPF (شکل۲-E)، حضور هم‌زمان گروه‌های عاملی مربوط به تمامی اجزای سازنده را نشان داد و شواهد مناسبی از تشکیل موفق ساختار کونژوگه فراهم کرد. باند پهن مشاهده شده در cm^{-1} ۳۴۳۱ نسبت به ترکیب اولیه افزایش پهنا و تغییر شدت نشان داد که می‌تواند ناشی از ایجاد و تقویت برهم‌کنش‌های هیدروژنی میان گروه‌های هیدروکسیل و آمینی موجود در کیتوزان، PEG و فولیک-اسید باشد (اندیس۱ در شکل۲-E). هم‌چنین حضور پیک‌های ۲۹۴۵ و cm^{-1} ۲۸۸۵ مربوط به ارتعاشات کششی پیوندهای آلیفاتیک C-H، وجود بخش‌های پلیمری PLA و PEG را در ساختار نانوذرات تأیید کرد (اندیس‌های ۲ و ۳ در شکل۲-E). در ناحیه کربونیل، پیک مشخصه PLA در cm^{-1} ۱۷۵۸ همچنان حفظ شد که نشان‌دهنده پایداری ساختار شیمیایی این پلیمر در طی فرایند سنتز است (اندیس۴ در شکل۲-E). علاوه‌براین، حضور پیک cm^{-1} ۱۶۹۸ مربوط به گروه‌های کربوکسیلی فولیک‌اسید و تغییر موقعیت باندهای آمیدی نسبت به مواد اولیه، به‌ویژه ظهور باندهای ۱۶۴۵ و cm^{-1} ۱۵۵۵، بیانگر تغییر محیط شیمیایی گروه‌های عاملی و برقراری برهم‌کنش میان اجزای سازنده سامانه است (اندیس‌های ۶ و ۷ در شکل۲-E). این جابه‌جایی‌ها و تغییرات طیفی را می‌توان به تشکیل پیوندهای آمیدی میان گروه‌های کربوکسیل فولیک‌اسید و گروه‌های آمینی کیتوزان نسبت داد که نشان‌دهنده کونژوگاسیون موفق فولیک‌اسید بر سطح نانوذرات است. هم‌چنین پیک مشاهده شده در حدود cm^{-1} ۱۳۸۰ به ارتعاشات خمشی C-H مربوط بوده به هم‌پوشانی

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]
[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]

سیگنال‌های حاصل از PLA و کیتوزان نسبت داده می‌شود (اندیس۸ در شکل۲-E). در ناحیه اثر انگشت نیز حضور پیک‌های ۱۱۸۵، ۱۱۱۰ و ۱۰۸۸ cm^{-1} به‌ترتیب مربوط به ارتعاشات کششی پیوندهای C-O-C و گروه‌های اتر در ساختار PLA و PEG است (به ترتیب اندیس‌های۹، ۱۰ و ۱۱ در شکل۲-E). به‌ویژه باند قوی ۱۱۱۰ cm^{-1} که مشخصه اصلی زنجیره‌های پلی‌اتیلن گلیکول محسوب می‌شود، حضور موفق PEG در ساختار نانوذرات را تأیید می‌کند.

پس از بارگذاری داروی پاکلی‌تاکسل و siRNA (شکل۳)، تغییرات قابل توجهی در طیف FTIR نانوذرات مشاهده شد که نشان‌دهنده برهم‌کنش‌های بین‌مولکولی و تثبیت موفق هر دو عامل درمانی در سامانه نانوحامل است. این تغییرات با ظهور پیک‌های جدید و همچنین جابه‌جایی و تغییر شدت برخی باندهای ارتعاشی مشخص می‌شود. بارگذاری پاکلی‌تاکسل با ظهور یک باند مشخص در ناحیه cm^{-1} ۱۷۳۵ (پیک ۱۸ در شکل۳-C)، همراه بوده است که به ارتعاشات کششی گروه‌های کربونیل استری و آمیدی دارو نسبت داده می‌شود و حضور موفق دارو در ساختار نانوذره را تأیید می‌کند. هم‌چنین ارتعاشات مربوط به پیوندهای C=C در حلقه‌های آروماتیک و پیوندهای C–O موجود در ساختار پاکلی‌تاکسل، پیک‌های جدیدی را در نواحی ۱۶۱۰ الی ۱۵۸۰ cm^{-1} و ۱۲۷۰ cm^{-1} (پیک‌های ۱۹ در شکل۳-C) ایجاد کرده‌اند که به عنوان مشخصه‌های طیفی حضور دارو در ماتریس پلیمری شناخته می‌شوند. در ادامه، بارگذاری siRNA نیز با ظهور باندهای اختصاصی مربوط به گروه‌های فسفات همراه بوده است. باند مشاهده‌شده در ۱۲۳۵ cm^{-1} (پیک ۱۶ در شکل۳-C) به ارتعاش کششی نامتقارن گروه P=O و باند ۱۰۷۰ cm^{-1} به ارتعاش کششی متقارن پیوندهای فسفودی‌استر در ستون فقرات siRNA نسبت داده می‌شود که حضور موفق این مولکول ژنتیکی را در سامانه تأیید می‌کند. علاوه بر ظهور این باندهای جدید، برهم‌کنش‌های الکترواستاتیکی میان گروه‌های فسفات با بار منفی siRNA و گروه‌های آمینی نانوذره موجب تغییر در ویژگی‌های طیفی برخی باندهای موجود شده است. به‌طور مشخص، باند پهن ناحیه ۳۴۳۱ cm^{-1} (پیک ۱ در شکل۳-C) دچار افزایش پهنا و جابه‌جایی جزئی به سمت اعداد موج پایین‌تر شده است که می‌تواند ناشی از تشکیل پیوندهای هیدروژنی و برهم‌کنش‌های الکترواستاتیکی جدید باشد. هم‌چنین تغییرات مشاهده‌شده در باندهای ۱۶۴۵ cm^{-1} (پیک ۶ در شکل۳-C) و ۱۵۵۵ cm^{-1} (پیک ۷ در شکل ۳-C) نشان‌دهنده برهم‌کنش میان گروه‌های کربونیل پاکلی‌تاکسل و باندهای آمیدی ماتریس پلیمری است. در مجموع، نتایج FTIR بیانگر بارگذاری موفق و هم‌زمان پاکلی‌تاکسل و siRNA در نانوذرات بوده و نشان می‌دهد که هر دو عامل درمانی بدون تخریب ساختار شیمیایی سامانه، به‌صورت پایدار در نانوکنژوگه تثبیت شده‌اند.

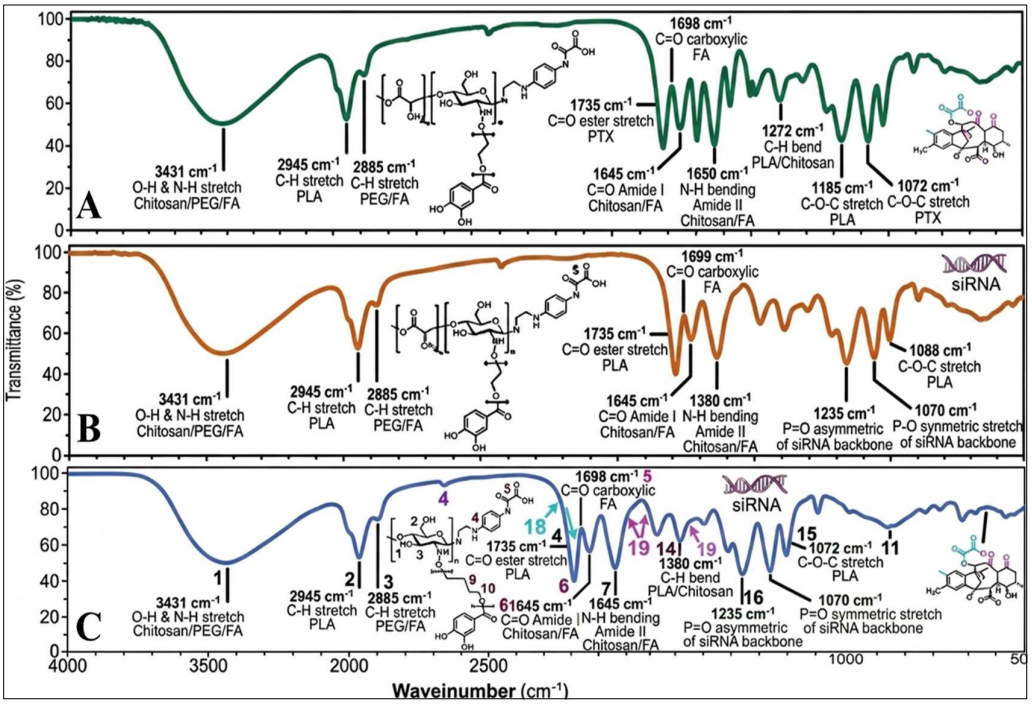


شکل۲: طیف FTIR نانوذرات به ترتیب A) PLA، B) کیتوسان، C) PEG، D) فولیک‌اسید و E) نانوذره PCPF

Figure 2: FTIR spectra of (A) PLA, (B) chitosan, (C) PEG, (D) folic acid, and (E) PCPF nanoparticles.

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]



شکل۳: طیف FTIR نانوذرات PCPF پس از بارگذاری A) داروی پاکلی‌تاکسل (PTX)، B) siRNA و C) PTX-siRNA

Figure 3: FTIR spectra of PCPF nanoparticles after loading with (A) paclitaxel (PTX), (B) siRNA, and (C) co-loaded PTX/siRNA.

DLS

طبق نتایج به دست آمده از اندازه و پتانسیل زتای نانوکپسول های سنتز شده به کمک DLS (جدول۱)، کمترین و بیشترین اندازه نانوذرات به ترتیب در نانوذرات PCPF (۶±۱۶۲ نانومتر) (شکل۴-A) و PCPF/siRNA /PTX (۱۱±۲۵۶ نانومتر) (شکل۴-D) مشاهده شد. طبق نتایج به دست آمده مشخص شد که انکپسوله نمودن داروی PTX و siRNA (به تنهایی و یا در ترکیب با یکدیگر) در نانوذرات PCPF موجب افزایش اندازه آن‌ها می‌شود. علاوه‌براین مشخص شد که افزودن داروی PTX به نانوذرات، اندازه نانوکپسول‌ها را در مقایسه با siRNA به طور قابل توجهی افزایش می‌دهد (جدول۱) (شکل۴-B و C). هم‌چنین نتایج حاصل از بررسی پتانسیل زتای نانوکپسول‌ها نشان داد که به غیر از نانوکپسول PCPF/PTX سایر نانوکپسول‌ها از پتانسیل زتای منفی برخوردار هستند (جدول۱ و شکل۴-E). از سویی دیگر طبق نتایج به دست آمده مشاهده شد که نانوکپسول‌های حاوی siRNA از پتانسیل زتای منفی‌تری برخوردارند به خصوص نانوکپسول PCPF/siRNA که بالاترین میزان یعنی ۰/۱۷±۶/۱۱- را داشت (شکل۴-B). چنین طبق مشاهدات مشخص شد که افزودن PTX به نانوکپسول PCPF/siRNA موجب افزایش پتانسیل زتای کل نانوکپسول حاصل می‌شود (جدول۱ و شکل۴-H). همان‌طوریکه از جدول-۱ استنباط می‌شود، افزایش ترکیبات انکپسوله شده در نانوذرات نظیر دارو یا siRNA موجب افزایش شاخص PDI می‌شود.

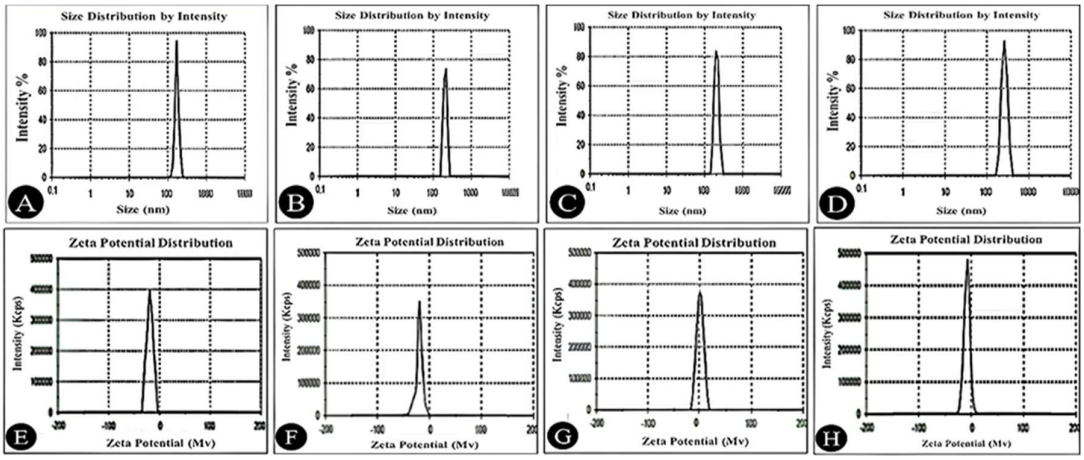
جدول۱: اندازه، پتانسیل زتا و شاخص پراکندگی ذرات (PDI) نانوذرات سنتز شده

Table 1: Size, zeta potential and particle dispersion index (PDI) of synthesized nanoparticles

Nanocapsule type	Size (nm)	Standard deviation	Zeta potential)mV(	Standard deviation	PDI	Standard deviation
PCPF	162	± 6	-4.14	± 0.34	0.32	± 0.08
PCPF/siRNA	181	± 7	-6.11	± 0.17	0.43	± 0.07
PCPF/PTX	199	± 12	+1.54	± 0.52	0.41	± 0.05
PCPF/siRNA/PTX	256	± 11	-1.50	± 0.50	0.49	± 0.09

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]

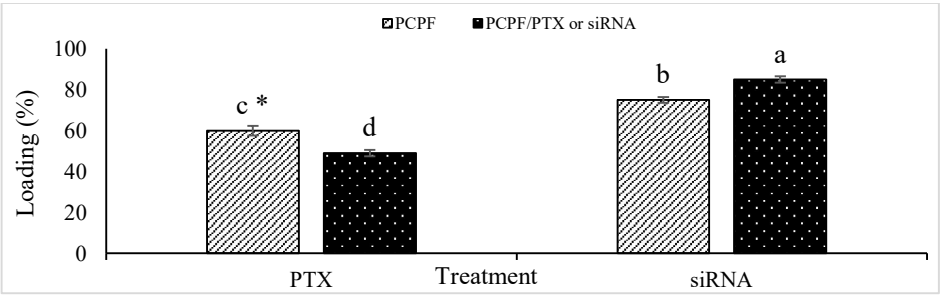


شکل۴: اندازه و پتانسیل نانوذرات A تا D) اندازه نانوکپسول‌های PCPF، PCPF/siRNA، PCPF/PTX و PCPF/siRNA/PTX؛ E تا H) پتانسیل زتای نانوکپسول‌های PCPF، PCPF/siRNA ، PCPF/PTX و PCPF/siRNA/PTX

Figure 4: Size and potential of nanoparticles A to D) Size of PCPF, PCPF/siRNA, PCPF/PTX, and PCPF/siRNA/PTX Nps; E to H) Zeta potential of PCPF, PCPF/siRNA, PCPF/PTX, and PCPF/siRNA/PTX NPs.

درصد بارگذاری داروی PTX و siRNA

نتایج بررسی درصد بارگذاری siRNA یا PTX در کوپلیمر PCPF و نانوکپسول‌های PCPF/siRNA یا PTX نشان داد که، بارگذاری siRNA در کوپلیمرهای PCPF و PCPF/siRNA به‌طور معنی‌داری و در سطح احتمال ۵ درصد، بیشتر از PTX بود. علاوه‌براین، نتایج نشان داد که راندمان بارگذاری siRNA در نانوکپسول PCPF/PTX در مقایسه با PCPF (به تنهایی)، بیشتر بود. به طوری که بارگذاری siRNA زمانی که به طور همزمان با PTX در کوپلیمر PCPF کپسوله شده بود، در مقایسه با siRNA از ۸۵ درصد به ۷۵ درصد کاهش یافت که این کاهش نیز معنی‌دار بود. در مقابل، در بارگذاری PTX در کوپلیمر PCPF در مقایسه با نانوکپسول PCPF/siRNA، میزان کپسوله نمودن PTX به طور معنی‌داری از ۴۹ به ۶۰ درصد افزایش یافت (شکل۵).



شکل۵: نمودار مقایسه میانگین راندمان بارگذاری siRNA و PTX در کوپلیمر PCPF و نانوکپسول‌های PCPF/siRNA یا PTX

***حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (در سطح احتمال ۵٪) بین تیمارها در هر یک از مقاطع زمانی مورد مطالعه است.**

Figure 5: Comparison chart of the average loading efficiency of siRNA and PTX in PCPF copolymer and PCPF/siRNA or PTX NPs.

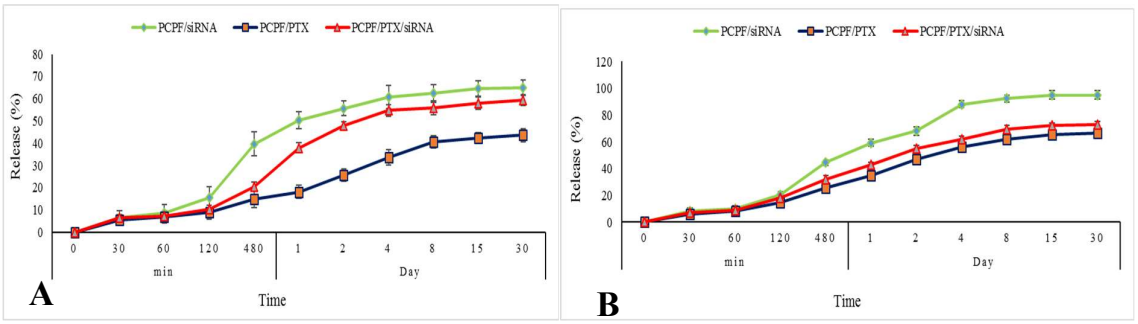
***Different letters indicate significant differences (at the 5% probability level) between treatments at each of the time points studied.**

بررسی الگوی رهش داروی PTX و siRNA از نانوکپسول‌های سنتز شده

به منظور پیش‌بینی نیمه عمر دارو در شرایط درون‌تنی و الگوی رهایش داروی PTX و siRNA از نانوکپسول‌های سنتز شده در جریان خون و هم‌چنین در بافت سرطانی، سنجش‌های رهایش دارو در شرایط اسیدی (pH=۵) و خنثی (pH=۷/۴) بررسی شد. دو مرحله رهایش PTX و siRNA از نانوکپسول‌ها مشاهده شد (شکل۶). در مرحله

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]
[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]

اول، مقدار قابل توجهی از داروی PTX محصور شده در نانوکپسول‌ها در مدت زمان کوتاهی آزاد شد. طبق نتایج، آزادسازی PTX و siRNA در PBS اسیدی (pH=۵) به طور قابل توجهی بیشتر از بافر PBS خنثی (pH=۷/۴) بود.



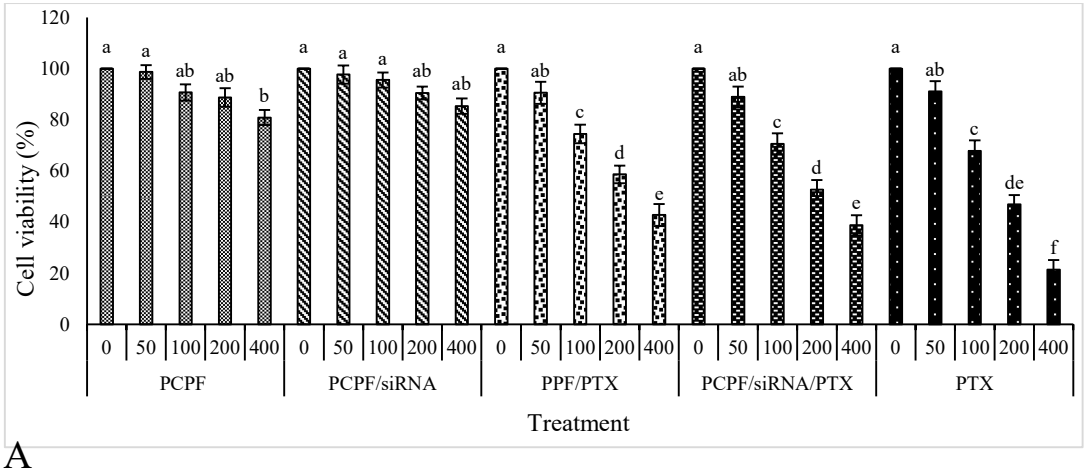
شکل۶: نمودارهای آزادسازی siRNA و PTX از نانوکپسول‌های مختلف در بافر PBS با A) pH=۷/۴ و B) pH=۵

Figure 6: siRNA and PTX release graphs from different NPs in PBS buffer with A) pH=4.7 and B) pH=5

بررسی سمیت سلولی

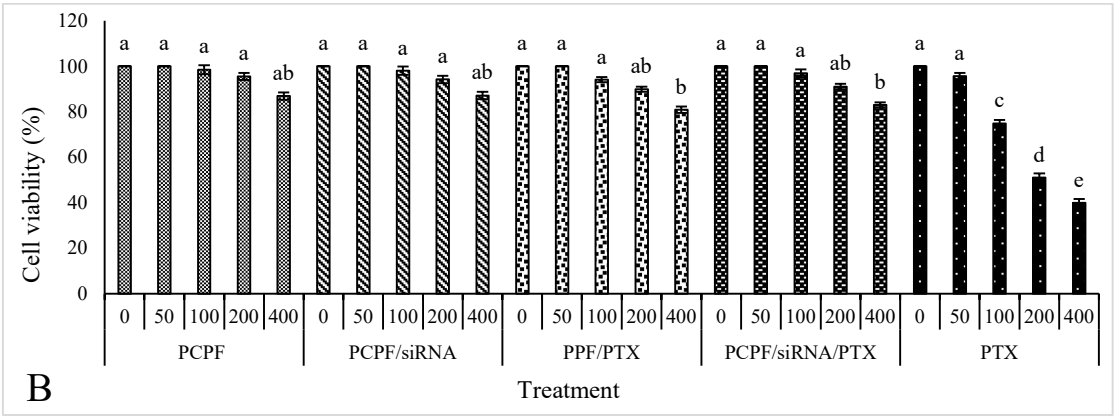
درصد زنده‌مانی سلولی (آزمون MTT)

طبق نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین داده‌ها (شکل۷)، مشخص شد که نانوذرات PCPF به تنهایی (فاقد داروی PTX یا siRNA) تأثیر معنی‌داری بر روی زنده‌مانی سلولی نداشتند و با افزایش غلظت تا ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نیز این تأثیر معنی‌دار نبود. اما با افزودن داروی PTX توان مقابله با سلول‌های سرطانی MCF-7 توسط نانوکپسول‌ها به‌طور معنی‌داری (در سطح احتمال ۵ درصد) افزایش یافت. از سویی دیگر مشخص شد که با افزایش غلظت نانوکپسول‌های حاوی PTX میزان زنده‌مانی سلولی به‌طور معنی‌داری کاهشی بود. برای نمونه درصد زنده‌مانی سلول‌های MCF-7 تیمار شده با ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر PCPF/PTX برابر با ۴۲/۷۶ درصد بود (شکل۷-A). علاوه‌براین طبق نتایج به دست آمده مشخص شد که افزودن siRNA به نانوذرات PCPF و یا نانوکپسول‌های PCPF/PTX تأثیر معنی‌داری بر روی زنده‌مانی سلول‌های MCF-7 نداشت، اما در ترکیب با نانوکپسول‌های حاوی PTX، اثرات ضدسرطانی این دارو را افزایش داد، اما این افزایش معنی‌دار نبود (شکل۷-A). کمترین درصد زنده‌مانی سلولی (۲۱/۴۵ درصد) در تیمار سلول‌ها با داروی PTX آزاد و در غلظت ۴۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر مشاهده شد که به‌طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود. از سویی دیگر، با بررسی اثر تیمارهای مختلف بر روی سلول‌های اپیتلیال پستان سالم (MCF-10A)، مشاهده شد که نانوذرات PCPF و فرمولاسیون‌های حاوی siRNA، اثر سیتوتوکسیک قابل توجهی بر زنده‌مانی این سلول‌ها نداشتند. در مقابل، داروی آزاد PTX کاهش معنی‌داری در زنده‌مانی سلول‌های سالم ایجاد کرد، که می‌تواند مربوط به عدم انتخابگری این دارو باشد (شکل۷-B).



[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]



شکل۷: درصد زنده‌مانی سلول‌های A) MCF-7 و B) MCF-10A تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات PCPF حاوی داروی PTX و siRNA و هم‌چنین PTX آزاد.

***حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (در سطح احتمال ۵٪) بین تیمارها در هر یک از مقاطع زمانی مورد مطالعه است.**

Figure 7: Percentage of A) MCF-7 and B) MCF-10A cells viability under the influence of different concentrations of PCPF nanoparticles containing PTX and siRNA drugs, as well as free PTX.

***Different letters indicate significant differences (at the 5% probability level) between treatments at each of the time points studied.**

میزان IC_{50} و شاخص انتخابی (SI)

براساس نتایج به‌دست آمده از شاخص انتخابی نانوکپسول‌های سنتز شده و PTX آزاد (جدول۲) ، مشخص شد که نانوکپسول‌های حاوی PTX به همراه siRNA (PCPF/siRNA/PTX)، بیشترین شاخص انتخابی (۱/۸۱) را داشتند، که حاکی از بهبود سمیت انتخابی علیه سلول‌های سرطانی MCF-7 نسبت به سلول‌های طبیعی MCF-10A است. این در حالیست که PTX آزاد با وجود پایین‌ترین مقدار IC_{50} (۱۸۶/۱۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر) علیه MCF-7، به دلیل سمیت قابل توجه در سلول‌های طبیعی (IC_{50} برابر با ۲۰۱/۴۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، شاخص انتخابی کمی (۱/۰۸) را داشتند. از سویی دیگر، فرمولاسیون‌های حاوی PTX و فاقد siRNA (PCPF/PTX) نیز SI متوسط ۱/۴۳ را نشان دادند. هم‌چنین طبق نتایج به دست آمده مشخص شد که نانوکپسول‌های فاقد siRNA و PTX (PCPF) و نانوکپسول‌های حاوی تنها siRNA (PCPF/siRNA) هیچ فعالیت ضدسرطانی انتخابی نداشته و شاخص انتخابی آن‌ها برابر با ۱ بود.

جدول۲: شاخص انتخابی نانوکپسول‌های سنتز شده و PTX آزاد

***حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (در سطح احتمال ۵٪) بین تیمارها در هر یک از مقاطع زمانی مورد مطالعه است.**

Table 2: Selectivity index of synthesized nanocapsules and free PTX

***Different letters indicate significant differences (at the 5% probability level) between treatments at each of the time points studied.**

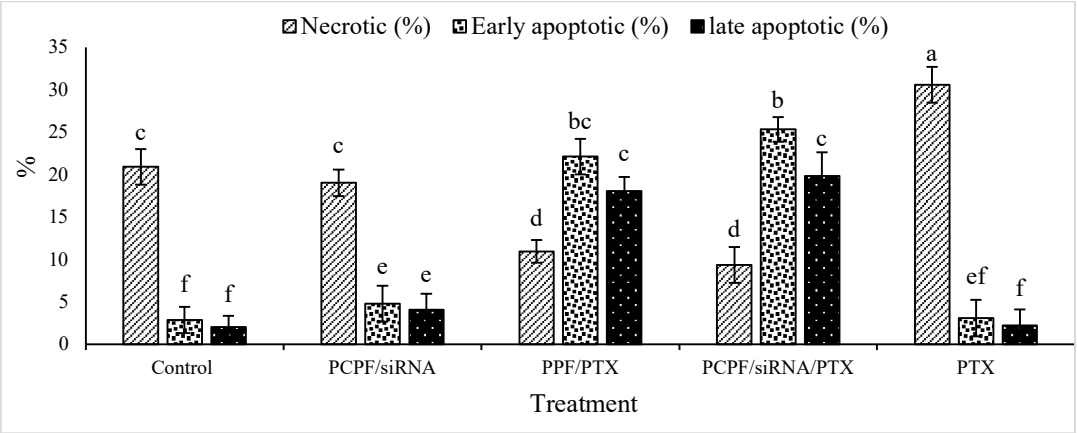
Treatment	IC_{50} (MCF-7)	IC_{50} (MCF-10A)	SI
PCPF	>400 [a]	>400 [a]	1
PCPF/siRNA	>400 [a]	>400 [a]	1
PCPF/PTX	278.45 [c]	>400 [a]	1.43
PCPF/siRNA/PTX	221.34 [b]	>400 [a]	1.81
PTX	186.14 [d]	201.45 [b]	1.08

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]

آپوپتوز سلولی

همان‌طوری‌که در شکل ۸ و ۹ که مربوط به سلول‌های MCF-7 تیمار شده با غلظت IC_{50} ترکیبات است، نشان داده شده است، بیشترین درصد سلول‌های MCF-7 واقع در مرحله پیش و پس آپوپتوتیک (به ترتیب ۲۵/۳۲ و ۱۹/۸۵ درصد) مربوط به تیمار این سلول‌ها با نانوکپسول‌های PCPF/siRNA /PTX بود، به طوری‌که از این نظر با تمامی تیمارها اختلاف معنی‌داری (در سطح احتمال ۵ درصد) داشت (جدول۲). اما از نظر سلول‌های واقع در مرحله نکروتیک، تیمار سلول‌ها با PTX آزاد بیشترین مقدار (۳۰/۵۹ درصد) را داشت که از این نظر با تمامی تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد (شکل۸ و شکل ۹-E).

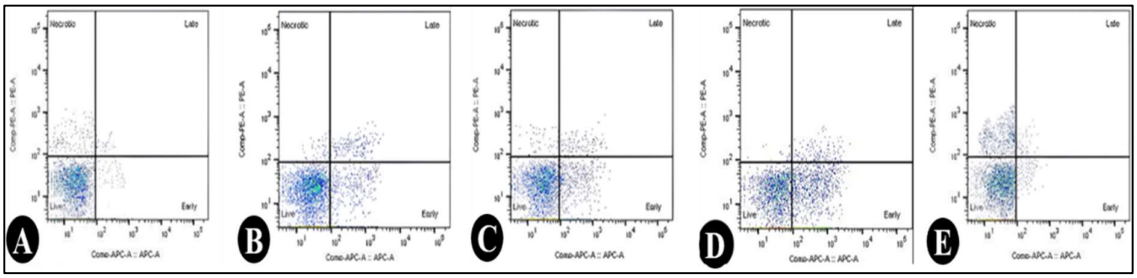


شکل۸: درصد سلول‌های MCF-7 نکروزه شده، پیش و پس آپوپتوزیس تحت تأثیر غلظت‌های IC_{50} نانوکپسول‌های PCPF/siRNA، PCPF/PTX، PCPF/siRNA/PTX و PTX آزاد

***حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (در سطح احتمال ۵٪) بین تیمارها در هر یک از مقاطع زمانی مورد مطالعه است.**

Figure 8: Percentage of necrotic MCF-7 cells, before and after apoptosis, affected by IC_{50} concentrations of PCPF/siRNA, PCPF/PTX, PCPF/siRNA/PTX NPs, and free PTX

***Different letters indicate significant differences (at the 5% probability level) between treatments at each of the time points studied.**



شکل۹: تصویر شماتیک فلوسایتومتری از سلول‌های MCF-7 واقع در فازهای نکروتیک، پیش و پس‌آپوپتوزیس تحت تأثیر غلظت‌های IC_{50} محاسبه شده؛ A) تیمار شاهد، B) نانوکپسول‌های PCPF/siRNA، C) نانوکپسول‌های PCPF/PTX، D) نانوکپسول‌های PCPF/siRNA/PTX و E) PTX آزاد.

Figure 9: Schematic flow cytometric image of MCF-7 cells located in necrotic, pre- and post-apoptosis phases under the influence of calculated IC50 concentrations; A) control treatment, B) PCPF/siRNA NPs, C) PCPF/PTX NPs, D) PCPF/siRNA/PTX NPs, and E) free PTX.

بحث

در سال‌های اخیر، استفاده از سامانه‌های نانوحامل برای تحویل همزمان داروهای شیمیایی و عوامل درمانی نوین مانند siRNA به یک برنامه هدفمند امیدوارکننده در

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]
[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]

درمان سرطان تبدیل شده است (۲۴). در این مطالعه، نانوذرات کوپلیمری سه‌جزئی متشکل از PLA، کیتوسان و PEG که با اسیدفولیک عامل‌دار شده‌اند، جهت مقابله با بیماری سرطان طراحی و سنتز شدند. این نانوحامل هوشمند با هدف قرار دادن گیرنده‌های اسیدفولیک که بر روی سلول‌های سرطان پستان MCF-7 به وفور بیان می‌شوند، امکان تحویل هدفمند هر دو عامل درمانی را فراهم می‌کند. نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که نانوکپسول مبتنی بر PLA، کیتوسان و PEG از زیست-سازگاری مناسبی بر سلول‌های Hs-578 برخوردار بودند. بطوری که هیچ‌گونه سمیت قابل ملاحظه‌ای در این نانوذرات مشاهده نشد (شکل۷). نتایج به دست آمده در این پژوهش با نتایج تحقیقات پیشین همراستا بود (۲۵). از سویی دیگر، همراستا با نتایج به دست آمده در این پژوهش، نوروزپور و همکاران (۲۰۲۵)، نشان دادند که نانوذرات مبتنی بر PLA-PEG، در شرایط با pH خنثی، رهایش آهسته و کنترل‌شده‌ای دارند، اما در محیط اسیدی (شبیه به اطراف سلول‌های سرطانی)، با تخریب سریع، موجب رهایش ناگهانی دارو می‌شوند (۲۲). ویژگی‌های مورفولوژیکی، به‌ویژه اندازه نانوذرات، نقش تعیین‌کننده‌ای در کارایی انتقال هدفمند دارو یا ژن به سلول‌های سرطانی دارد (۲۸). نانوذرات با اندازه بهینه (در محدوده ۵۰ تا ۲۰۰ نانومتر) می‌توانند به‌طور مؤثر از بافت عروقی تومور عبور نموده و در بافت سرطانی تجمع یابند (۲۹). علاوه‌براین، به دلیل سازگاری نانوذرات در این محدوه اندازه بهینه با اندازه حفره‌های غشای سلول و مکانیسم‌های درونی‌سازی، امکان آندوسیتوز کارآمد توسط سلول‌های سرطانی را فراهم می‌کند (۳۰). در مقابل، ذرات بزرگ‌تر ممکن است توسط عوامل فاگوسیت هضم و حذف شوند و ذرات کوچک‌تر نیز فاقد تجمع موثر در تومور هستند (۳۱). مهاجری و همکاران (۲۰۲۵)، با بررسی اندازه نانوکپسول در انتقال هدفمند دارو و siRNA به سلول‌های سرطانی MCF-7، گزارش دادند که نانوکپسول‌های کارآمد با بالاترین درصد انتقال و کمترین اثر منفی در انتقال، نانوکپسول‌هایی هستند که در محدوده ۲۲۰ الی ۲۶۰ نانومتر باشند (۲۵). بر اساس نتایج حاصل در این پژوهش توسط DLS مشخص شد که اندازه نانوذرات PCPF برابر با نانومتر۱۶۲ بود که با بارگذاری همزمان پاکلی‌تاکسل و siRNA به ۲۵۶ نانومتر افزایش یافت، که این افزایش اندازه، موفقیت در بارگذاری را تأیید می‌کند (جدول۱). هم‌چنین طبق نتایج به دست آمده مشخص شد که نانوذرات سنتز شده از پتانسیل زتای منفی برخوردارند (حتی پس از بارگذاری PTX یا siRNA این خاصیت در نانوذرات حفظ شد) که این پتانسیل زتای منفی، ناشی از حضور گروه‌های آنیونی در ساختار این نانوذرات بود و حضور siRNA (به دلیل دارا بودن گروه‌های فسفات) این بار منفی را تشدید کرد. از سویی دیگر شاخص PDI پایین نمونه پایه، نشان‌دهنده توزیع یکنواخت ذرات بود و اگرچه بارگذاری دارو و siRNA این شاخص را افزایش داد، ولی الگوی سیستماتیک تغییرات در اندازه و بار سطحی، تشکیل کنترل‌شده نانوحامل و موفقیت‌آمیز بودن فرآیند بارگذاری را اثبات می‌کند.

بر اساس نتایج حاصل از ارزیابی سمیت نانوکپسول های مبتنی بر PLA-Chitosan-PEG حاوی PTX و siRNA (به تنهایی و یا در ترکیب با یکدیگر) بر روی رده سلولی سالم MCF-10A (شکل۷-B)، مشخص شد که نانوذرات PCPF و هم‌چنین نانوکپسول‌های حاوی تنها siRNA فاقد اثر سیتوتوکسیک قابل توجه بودند. در مقابل، داروی آزاد PTX به‌طور معنی‌داری باعث کاهش زنده‌مانی سلول‌های سالم شد. این مشاهدات نشان می‌دهد که سامانه نانوذرات طراحی‌شده، به لطف مکانیسم هدفمندی مبتنی بر گیرنده اسیدفولیک، سمیت انتخابی علیه سلول‌های سرطانی دارد. این در حالیست که با بررسی تأثیر نانوکپسول‌های سنتز شده بر روی رده سلول سرطانی MCF-7 مشخص شد که نانوذرات PCPF حتی در غلظت‌های بالا فاقد سمیت قابل توجه بر روی سلول‌های MCF-7 بودند (شکل۷-A). بارگذاری داروی PTX در نانوذرات (PCPF/PTX) منجر به کاهش معنی‌دار زنده‌مانی سلولی به صورت وابسته به غلظت شد، به‌طوری که در غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، زنده‌مانی به ۴۲/۷۶ درصد رسید (شکل۷-A). اگرچهsiRNA به تنهایی اثر سیتوتوکسیک نداشت، اما در ترکیب با PCPF/PTXموجب تشدید اثر ضدسرطانی PTX شد. قابل توجه اینکه داروی آزاد PTX در همان غلظت، با کاهش زنده‌مانی تا ۲۱/۴۵ درصد، بیشترین سمیت را نشان داد. در این پژوهش استفاده از siRNA در نانوکپسول‌های حاوی PTX با هدف افزایش حساسیت سلول‌های سرطانی و سرکوب ژن‌های مرتبط با مقاومت چندداروی طراحی شده است. siRNA پس از ورود به سلول، mRNA هدف

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]

را کاهش می‌دهد و در نتیجه پروتئین‌های مقاومتی کمتر تولید می‌شوند، که امکان اثرگذاری بیشتر PTX را فراهم می‌آورد (۳۲). اگرچه در مطالعه حاضر ارزیابی مستقیم خاموشی ژن (knockdown) ژنی ارائه نشده است، مطالعات پیشین نشان داده‌اند که siRNA در فرمولاسیون‌های مشابه می‌تواند سمیت سلولی را افزایش داده و IC_{50} را کاهش دهد و اثر ترکیبی با داروهای شیمی‌درمانی را تقویت کند (۳۳). که با نتایج به دست آمده در این پژوهش همراستا می‌باشد، در این پژوهش مشاهده شد که افزودن siRNA به نانوکپسول‌های حاوی PTX میزان IC_{50} را از ۲۷۸/۴۵ به ۲۲۱/۳۴ کاهش داد که این کاهش معنی‌دار بود (جدول۲). از سویی نیز، نتایج MTTارائه‌شده در این پژوهش به صورت غیرمستقیم تغییرات پاسخ سلول به PTX در حضور siRNA را نشان می‌دهند و می‌توانند به عنوان شاخص اولیه اثر سینرژیک در نظر گرفته شوند. شاخص انتخاب‌گری (SI) یک پارامتر کمی مهم در مطالعات آزمایشگاهی سرطان است که توانایی یک عامل درمانی در تمایز بین سلول‌های سرطانی و سلول‌های سالم را نشان می‌دهد (۳۴). این شاخص با مقایسه سمیت در رده‌های سلولی نرمال و سرطانی، اطلاعات ارزشمندی درباره ایمنی نسبی و هدفمندی درمان فراهم می‌کند. استفاده از SI به پژوهشگران کمک می‌کند تا اثربخشی واقعی ترکیبات ضدسرطان را فراتر از سمیت مطلق ارزیابی کنند (۳۵). طبق نتایج حاصل از شاخص انتخابی در این پژوهش مشخص شد که نانوکپسول‌های حاوی PTX و siRNA (PCPF/siRNA/PTX) بالاترین مقدار SI را در مقایسه با سایر گروه‌ها ارائه داده‌اند که بیانگر افزایش معنی‌دار سمیت انتخابی علیه سلول‌های سرطانی MCF-7نسبت به سلول‌های طبیعی MCF-10A است (جدول۲). در مقابل، اگرچه PTX آزاد کمترین مقدار IC_{50} را در سلول‌های سرطانی نشان داد، اما سمیت بالای آن در سلول‌های سالم منجر به کاهش چشمگیر شاخص انتخابی شد، که محدودیت بالینی این دارو را به‌خوبی نشان می‌دهد. بهبود SI در فرمولاسیون‌های نانوکپسولی حاوی PTX را می‌توان به رهایش کنترل‌شده دارو و کاهش مواجهه غیرهدفمند سلول‌های سالم نسبت داد. افزایش بیشتر شاخص انتخابی در حضور siRNA بیانگر آن است که siRNA می‌تواند با افزایش حساسیت سلول‌های سرطانی یا تضعیف مکانیسم‌های بقا و مقاومت سلولی، اثر ضدسرطانی PTX را به‌صورت انتخابی تقویت کند. از سوی دیگر، عدم مشاهده فعالیت انتخابی در نانوکپسول‌های فاقد PTXبیانگر آن است که اثر ضدسرطانی مشاهده شده عمدتاً ناشی از PTX بوده و نقش نانوحامل و siRNA در این سیستم، بهبود انتخاب‌گری و ایمنی درمانی است. مطالعات متعددی اثبات کرده‌اند که کپسوله‌سازی ترکیبات ضدسرطانی در نانوحامل‌ها، اثر القایی آن‌ها بر مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی (آپوپتوز سلولی) را تقویت می‌کند. به عنوان مثال، بررسی انجام‌شده بر روی نانوذرات بارگذاری‌شده با کوئرستین نشان داد که این فرمولاسیون نسبت به کوئرستین آزاد با کارایی بیشتری موجب فعال‌سازی مسیر ذاتی آپوپتوز در سلول‌های سرطانی کبد شده است (۳۹). این پدیده احتمالاً ناشی از افزایش جذب سلولی، بهبود زیست‌دسترس‌پذیری و پایداری بیشتر کوئرستین در محیط‌های بیولوژیکی می‌باشد. نتایج حاصل از این پژوهش و آنالیز آپوپتوز و نکروز در سلول‌های MCF-7 نشان داد که تیمار با نانوکپسول‌های حاوی ترکیب همزمان PTX و siRNA (PCPF/siRNA/PTX) بیشترین درصد آپوپتوز (۱۷/۵۲ درصد) را نشان داد. در مقابل، داروی آزاد PTX بیشترین سمیت را از طریق مکانیسم نکروز (۳۰/۵۹ درصد) ایجاد نمود (شکل۸ و ۹). این یافته به وضوح برتری سامانه نانوذرات را در القای مرگ برنامه‌ریزی شده (آپوپتوز) و کاهش مرگ التهابی (نکروز) در مقایسه با داروی آزاد نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری

در مجموع، توسعه نانوذرات کوپلیمری مبتنی بر-PLA PEG به‌عنوان یک سامانه نوین دارورسانی، با زیست سازگاری مناسب، رهایش کنترل‌شده وابسته به pH و هدفمندسازی با فولیک‌اسید، عملکرد مؤثری در افزایش تجمع دارو در بافت توموری و کاهش عوارض جانبی نشان دادند. این نانوذرات با قابلیت بارگذاری همزمان PTX/siRNA، اثرات سینرژیستی قابل‌توجهی در مهار سلول‌های MCF-7 ایجاد کرده و با القای غالب آپوپتوز و سمیت انتخابی در مقایسه با سلول‌های سالم MCF-10A، مزیت درمانی مطلوبی ارائه دادند. با این حال، عدم ارزیابی مستقیم خاموشی ژن (knockdown) از جمله محدودیت‌های مطالعه محسوب می‌شود و انجام بررسی‌های مولکولی دقیق‌تر در مطالعات آتی توصیه می‌گردد.

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله اعلام می‌دارند که متن تحریر شده با هیچ مزمون دیگری در هیچ نهاد علمی و تحقیقاتی تعارض منافع اعم از علمی و سایر موارد مربوط به پیشبرد اهداف علمی ندارد.

منابع

1. Ahmad A. Breast cancer statistics: recent trends. Breast cancer metastasis and drug resistance: challenges and progress. 2019:1-7. doi: org/10.1007/978-3-030-20301-6-1
2. Bourang S, Noruzpour M, Jahanbakhsh Godekahriz S, Ebrahimi HA, Amani A, Asghari Zakaria R, et al. Application of nanoparticles in breast cancer treatment: a systematic review. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. 2024;397(9):6459-505. doi:org/10.1007/s00210-024-03082-y.
3. Yahya EB, Alqadhi AM. Recent trends in cancer therapy: A review on the current state of gene delivery. Life Sciences. 2021;296:124-138. doi: org/10.1016/j.lfs.2021.119087.
4. Bahrami B, Hojjat-Farsangi M, Mohammadi H, Anvari E, Ghalamfarsa G, Yousefi M, et al. Nanoparticles and targeted drug delivery in cancer therapy. Immunology Letters. 2017;190:64-83. doi: org/10.1016/j.imlet.2017.07.015.
5. Liu C, Zhang L, Zhu W, Guo R, Sun H, Chen X, et al. Barriers and strategies of cationic liposomes for cancer gene therapy. Molecular Therapy Methods & Clinical Development. 2020;18:751-64. doi: org/10.1016/j.omtm.2020.07.015.
6. Mosleh-Shirazi S, Abbasi M, Reza Moaddeli M, Vaez A, Shafiee M, Kasaee SR, et al. Nanotechnology advances in the detection and treatment of cancer: an overview. Nanotheranostics. 2022;6(4):400. doi:org/10.7150/ntno.74613.
7. Xu X, Liu C, Wang Y, Koivisto O, Zhou J, Shu Y, et al. Nanotechnology-based delivery of CRISPR/Cas9 for cancer treatment. Advanced drug delivery reviews. 2021;176:1-31. doi: org/10.1016/j.addr.2021.113891
8. Mohajeri S, Yaghoubi H, Bourang S, Noruzpour M. Multifunctional magnetic nanocapsules for dual delivery of siRNA and chemotherapy to MCF-7 cells (Breast cancer cells). Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. 2025:1-23. doi: org/10.1007/s00210-025-04381-8.
9. Dastgerdi NK, Dastgerdi NK, Bayraktutan H, Costabile G, Atyabi F, Dinarvand R, et al. Enhancing siRNA cancer therapy: Multifaceted strategies with lipid and polymer-based carrier systems. International Journal of Pharmaceutics. 2024:124-138. doi: org/10.1016/j.ijpharm.2024.124545.
10. Zenjanab MK, Alimohammadvand S, Doustmihan A, Kianian S, Oskouei BS, Mazloomi M, et al. Paclitaxel for breast cancer therapy: a review on effective drug combination modalities and nano drug delivery platforms. Journal of Drug Delivery Science and Technology. 2024;95:105-126. doi: org/10.1016/j.jddst.2024.105567
11. Czabotar PE, García-Sáez AJ. Mechanisms of BCL-2 family proteins in mitochondrial apoptosis. Nature reviews Molecular cell biology. 2023;24(10):732-48. doi: org/10.1038/s41580-023-00629-4.
12. Sati P, Sharma E, Dhyani P, Attri DC, Rana R, Kiyekbayeva L, et al. Paclitaxel and its semi-synthetic derivatives: comprehensive insights into chemical structure, mechanisms of action, and anticancer properties. European journal of medical research. 2024;29(1): 90-124. doi: org/10.1186/s40001-024-01657-2.
13. Reshma P, Unnikrishnan B, Preethi G, Syama H, Archana M, Remya K, et al. Overcoming drug-resistance in lung cancer cells by paclitaxel loaded galactoxyloglucan nanoparticles. International journal of biological macromolecules. 2019;136:266-74. doi: org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.075.
14. Abebe DG, Kandil R, Kraus T, Elsayed M, Merkel OM, Fujiwara T. Three-layered biodegradable micelles prepared by two-

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]

18. Kesharwani P, Halwai K, Jha SK, Al Mughram MH, Almujri SS, Almalki WH, et al. Folate-engineered chitosan nanoparticles: next-generation anticancer nanocarriers. Molecular Cancer. 2024;2(1): 244. doi: org/10.1186/s12943-024-02163-z

19. Mohajeri S, Raei M, Bourang S, Noruzpour M, Yaghoubi H. Multifunctional Polyspermine-based Nanocapsules for Targeted Gene Delivery to Gastric Cancer Cells. BioNanoScience. 2025;15(4):544. doi: org/10.1007/s12668-025-02167-z

20. Zou W, Liu C, Chen Z, Zhang N. Preparation and characterization of cationic PLA-PEG nanoparticles for delivery of plasmid DNA. Nanoscale research letters. 2009;4:982-92. doi: org/10.1007/s11671-009-9345-3.

21. Bourang S, Jahanbakhsh Godehkahriz S, Noruzpour M, Asghari Zakaria R, Granados-Principal S. Anticancer properties of copolymer nanoparticles loaded with *Foeniculum vulgare* derivatives in Hs578T and SUM159 cancer cell lines. Cancer Nanotechnology. 2025;16(1):1-28. doi: org/10.1186/s12645-025-00318-1

22. Noruzpour M, Zakaria RA, Zare N, Bourang S, Ebrahimi HA, Granados-Principal S. Delivery of *Moringa oleifera* extract via PLA-PEG-FA/chitosan-PLA NPs into breast cancer cell lines. BioNanoScience. 2025;15(2):287. doi: org/10.1007/s12668-025-01902-w

23. Bourang S, Asadian S, Noruzpour M, Mansuryar A, Azizi S, Ebrahimi HA, et al. PLA-HA/Fe_3O_4 magnetic nanoparticles loaded with curcumin: physicochemical characterization and toxicity evaluation in HCT116 colorectal cancer cells. Discover Applied Sciences. 2024;6(4):186. doi: org/10.1007/s42452-024-05858-6.

24. Paunovska K, Loughrey D, Dahlman JE. Drug delivery systems for RNA therapeutics. Nature Reviews Genetics. 2022;23(5):265-80. doi: org/10.1038/s41576-021-00439-4.

25. Mohajeri S, Yaghoubi H. siRNA-FAM and Paclitaxel delivery to MCF-7 cells via folic acid-PLA-Spermine-PEG-Fe_3O_4 step self-assembly of PLA-PEI-PLA and PLA-PEG-PLA triblock copolymers as efficient gene delivery system. Macromolecular bioscience. 2015;15(5):698-711. doi: org/10.1002/mabi.201400488

15. Amani A, Kabiri T, Shafiee S, Hamidi A . Preparation and characterization of PLA-PEG-PLA/PEI/DNA nanoparticles for improvement of transfection efficiency and controlled release of DNA in gene delivery systems. Iranian journal of pharmaceutical research. 2019;18(1):125. doi: org/10.1016/j.jddst.2022.104016.

16. Mohajeri S, Dashti S, Noruzpour M, Bourang S, Yaghoubi H. Design and preparation of PLA-chitosan-PEG-glucose copolymer for combined delivery of Paclitaxel and siRNA. Discover Applied Sciences. 2025;7(8):801. doi: org/10.1007/s42452-025-07458-4.

17. Mundel R, Thakur T, Chatterjee M. Emerging uses of PLA–PEG copolymer in cancer drug delivery. Biotech. 2022;12(2):41. doi:org/10.1007/s13205-021-03105-y.

nanoparticles. Nanomedicine Journal. 2026;13:1. doi: org/10.1007/s12033-025-01454-0.

26. Wu Y, Li X, Fu X, Huang X, Zhang S, Zhao N, et al. Innovative nanotechnology in drug delivery systems for advanced treatment of posterior segment ocular diseases. Advanced science. 2024;11(32):24-35. doi: org/10.1002/advs. 202403399.

27. Mansuryar A, Bourang S, Noruzpour M, Ebrahimi HA, Amani A, Granados-Principal S, et al. The effect of Fe_3O_4 biosynthesized through the green synthesis of Silybum marianum and HA in the targeted delivery of 5-Fluorouracil to HCT116 cell line. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences. 2025;33(2):27. doi: org/10.1007/s40199-025-00568-9.

28. Noruzpuor M, Asghari Zakaria R, Zare N, Ebrahimi HA, Parsa H, Bourang S. Green synthesis of metal nanoparticles using aqueous extract of *Moringa oleifera* L. and investigating their antioxidant and

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]

antibacterial properties. Applied Chemistry Today. 2024;19(71):283-02. doi: org/10.61186/ijbd. 17.1.59.

29. Bourang S, Jahanbakhsh Godehkahriz S, Asghari Zakaria R, Parsa H, Noruzpuor M. Green synthesis of iron oxide, copper, zinc oxide, and silver nanoparticles from aqueous extract of *F. vulgare* and evaluation of their structural and antimicrobial properties. Agricultural Biotechnology Journal. 2024;16(3):60-88. doi: org/10.1186/s12645-025-00318-1.

30. Noruzpuor M, Asghari Zakaria R, Zare N, Ebrahimi HA, Parsa H, Bourang S. 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. Iranian Journal of Breast Diseases. 2024;17(1):59-83. doi: org/10.61186/ijbd. 17.1.59.

31. Hu Q, Li H, Wang L, Gu H, Fan C. DNA nanotechnology-enabled drug delivery systems. Chemical reviews. 2018;119(10):459-506. doi: org/10.1021/acs.chemrev.7b00663.

32. Creixell M, Peppas NA. Co-delivery of siRNA and therapeutic agents using nanocarriers to overcome cancer resistance. Nano today. 2012;7(4):367-79. doi:org/10.1016/j.nantod.2012.06.013.

33. Li M, Li S, Li Y, Li X, Yang G, Li M, et al. Cationic liposomes co-deliver chemotherapeutics and siRNA for the treatment of breast cancer. European Journal of Medicinal Chemistry. 2022;233:114-198. doi:org/10.1016/j.ejmech.2022.114198.

34. Moghadam ME, Sadeghi M, Mansouri-Torshizi H, Saidifar M. High cancer selectivity and improving drug release from mesoporous silica nanoparticles in the presence of human serum albumin in cisplatin, carboplatin, oxaliplatin, and oxalipalladium treatment. European Journal of Pharmaceutical Sciences. 2023;187:106-177. doi: org/10.1016/j.ejps.2023.106477.

35. Kundu S, Feizi-Dehnayebi M, Akkoc S. Exploring the anticancer potential of novel benzimidazolium salts: synthesis, biological evaluation, DFT perspective, and docking simulation for inhibition of VEGFR2. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2025:152-172. doi: org/10.1016/j.bbrc.2025.152472.

36. Kaloni D, Diepstraten ST, Strasser A, Kelly GL. BCL-2 protein family: attractive targets for cancer therapy. Apoptosis. 2023;28(1):20-38. doi: org/10.1007/s10495-022-01780-7.

37. Green DR. Caspase activation and inhibition. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. 2022;14(8): 41-90. doi: org/10.1101/cshperspect.a041020.

38. Romani AM. Cisplatin in cancer treatment. Biochemical pharmacology. 2022;206:115-123. doi: org/10.1016/j.bcp.2022.115323.

39. Ahmadi M, Valizadeh A, Bazavar M, Yousefi B. Investigating the role of quercetin in increasing the rate of cisplatin-induced apoptosis via the NF-κB pathway in MG-63 cancer cells. Drug research. 2022;72(07):385-389. doi: org/10.1055/a-1842-7424.

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.66224/ijbd.19.2.4]