

Selective cytotoxicity and apoptosis induction by biosynthesized silver nanoparticles using (*Serenoa repens*) extract in breast and prostate cancer cell lines

Behzad Amraei¹

1- Assistant Professor, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran;

Abstract

Aim and Background: Silver nanoparticles (AgNPs) are known for their anticancer properties, while *Serenoa repens* (Saw Palmetto) extract has demonstrated inhibitory effects on cancer cell growth. This study investigates the selective cytotoxicity of AgNPs synthesized with *S. repens* extract on breast (MCF-7) and prostate (PC-3) cancer cell lines, compared to normal cells (MCF-10A and RWPE-1).

Materials and Methods: AgNPs were synthesized using an aqueous extract of *S. repens*. Cell viability was assessed at 24, 48, and 72 hours using the MTT assay. Apoptosis and cell death were analyzed through Annexin V/PI staining. Cells were treated with 10–80 µg/mL of AgNPs, and IC₅₀ values were calculated. Statistical analyses were used to compare group differences.

Results: The synthesized AgNPs exhibited dose-dependent cytotoxic effects on MCF-7 and PC-3 cells, with IC₅₀ values of 25 and 50 µM, respectively. Linear regression analysis confirmed a significant decrease in cancer cell viability with increasing nanoparticle concentrations, while minimal effects were observed on normal cell lines (p<0.05).

Conclusion: AgNPs synthesized with *S. repens* extract selectively target cancer cells while sparing normal cells, indicating high therapeutic potential against breast and prostate cancers. Further studies are needed to determine optimal dosing and clarify apoptotic mechanisms.

Keywords: Silver Nanoparticles, *Serenoa Repens*, Breast Cancer, Prostate Cancer, Apoptosis, Selective Cytotoxicity

Corresponding Author:

Behzad Amraei, Assistant Professor, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

Email: b.amraei@pnu.ac.ir

سمیت انتخابی و القای آپوپتوز توسط نانوذرات نقره زیستی سنتز شده با عصاره نخلک اره‌ای در رده‌های سلولی سرطان پستان و پروستات

بهزاد امرایی^۱

۱- استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران؛

چکیده

سابقه و هدف: نانوذرات نقره (AgNPs) به دلیل خواص ضدسرطانی شناخته شده‌اند و عصاره گیاه نخل اره‌ای (*Serenoa repens*) نیز اثرهای مهاری بر رشد سلول‌های سرطانی دارد. این مطالعه به بررسی سمیت انتخابی نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره نخل اره‌ای بر سلول‌های سرطانی پستان (MCF-7) و پروستات (PC-3) در مقایسه با سلول‌های نرمال MCF-10A و RWPE-1 می‌پردازد.

مواد و روش‌ها: نانوذرات نقره با عصاره آبی نخل اره‌ای تهیه شد. اثر آن‌ها بر بقای سلولی در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با آزمون MTT بررسی گردید. مرگ سلولی و آپوپتوز با استفاده از آنالیز Annexin V/PI ارزیابی شد. سلول‌ها با غلظت‌های ۱۰ تا ۸۰ $\mu\text{g/mL}$ تیمار شده و مقدار IC_{50} تعیین شد. داده‌ها با آزمون‌های آماری تحلیل شدند.

یافته‌ها: نانوذرات سنتز شده اثرهای سمی وابسته به دوز بر سلول‌های MCF-7 و PC-3 داشتند و مقادیر IC_{50} به ترتیب ۲۵ و ۵۰ میکرومول تعیین شد. تحلیل رگرسیون خطی کاهش معنی‌دار بقای سلول‌های سرطانی در مقایسه با سلول‌های نرمال را تأیید کرد ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: نانوذرات نقره حاصل از عصاره نخل اره‌ای قابلیت هدف‌گیری انتخابی سلول‌های سرطانی را دارند و آسیب کمتری به سلول‌های طبیعی وارد می‌کنند، که نشان‌دهنده پتانسیل درمانی بالای آن‌ها در سرطان‌های پستان و پروستات است. تحقیق‌های بیشتری برای تعیین دوز بهینه و بررسی دقیق‌تر مکانیسم‌های آپوپتوز مورد نیاز است.

واژگان کلیدی: نانوذرات نقره، نخل اره‌ای، سرطان پستان، سرطان پروستات، آپوپتوز، سمیت انتخابی

۱- مقدمه

سرطان پستان، یکی از شایع‌ترین انواع سرطان در زنان است و به‌عنوان یکی از عوامل اصلی مرگ‌ومیر در سطح جهانی شناخته می‌شود [۱]. طبق گزارش‌های جهانی، سرطان پستان به‌ویژه در کشورهای پیشرفته، به‌دلیل عوامل ژنتیکی، هورمونی و سبک زندگی شیوع بالایی دارد [۲]. در سال ۲۰۱۸، تعداد ۲/۱ میلیون مورد جدید سرطان پستان در سراسر جهان گزارش شده که این بیماری مسئول تقریباً ۲۵ درصد از موارد سرطان در زنان است [۱]. درمان‌های رایج سرطان پستان شامل جراحی، شیمی‌درمانی، پرتودرمانی و درمان‌های هورمونی هستند. با این حال، مشکلاتی نظیر مقاومت به درمان، عوارض جانبی شدید و محدودیت‌های درمان‌های موجود، لزوم جست‌وجو برای روش‌های درمانی نوین و کم‌عارضه‌تر را بیشتر کرده است [۳].

در سال‌های اخیر، نانوذرات به‌عنوان یک روش درمانی نوین در درمان سرطان‌ها شناخته شده‌اند. نانوذرات به‌دلیل اندازه کوچک، سطح بالای تماس با سلول‌ها، قابلیت حمل مواد فعال و توانایی هدف‌گیری خاص، پتانسیل بالایی برای درمان سرطان‌ها دارند [۴]. نانوذرات نقره (AgNPs) به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدباکتریایی خود در مطالعه‌های مختلف برای درمان سرطان به‌کار گرفته شده‌اند. این نانوذرات می‌توانند از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) موجب آسیب به DNA و تخریب سلول‌های سرطانی شوند [۵]. علاوه بر این، نانوذرات نقره به‌دلیل اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم بالا، به‌راحتی می‌توانند به سلول‌های سرطانی وارد شده و اثرهای درمانی خود را اعمال کنند [۶].

یکی از منابع گیاهی با پتانسیل ضدسرطانی، عصاره نخل اره‌ای است که عمدتاً برای درمان بیماری‌های پروستات مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گیاه دارای ترکیب‌های فعال بیولوژیکی مانند اسیدهای چرب و فیتوسترول‌ها است که خواص ضدالتهابی و ضدسرطانی آن را تقویت می‌کنند [۷]. مطالعه‌های متعدد نشان داده‌اند که عصاره نخل اره‌ای می‌تواند رشد سلول‌های سرطانی را مهار کند و اثرهای منفی شیمی‌درمانی را کاهش دهد [۸].

در این راستا، استفاده از عصاره نخل اره‌ای برای سنتز نانوذرات نقره به‌عنوان یک راه‌بردی نوین در درمان سرطان پستان و پروستات مورد توجه قرار گرفته است. نانوذرات نقره

سنتز شده با عصاره نخل اره‌ای می‌تواند اثرهای ضدسرطانی قوی‌تری نسبت به نانوذرات نقره سنتز شده به روش‌های سنتی داشته باشند. این نانوذرات علاوه بر داشتن اثرهای ضدسرطانی مستقیم، می‌توانند به‌عنوان حامل‌کننده‌های دارویی برای انتقال داروهای ضدسرطان به محل تومور استفاده شوند و با کمترین عوارض جانبی، اثرهای درمانی بیشتری را به‌همراه داشته باشند [۹].

رده‌های سلولی MCF-7 و PC-3 از جمله مدل‌های پُرکاربرد برای مطالعه سرطان هستند. سلول‌های MCF-7 یک رده سلولی سرطان پستان انسانی هستند که به هورمون استروژن حساس بوده و برای بررسی تأثیرهای درمان‌های هورمونی و ضدسرطان استفاده می‌شوند [۱۰]. همچنین، رده سلولی PC-3 مدل سرطان پروستات مقاوم به هورمون است که در بسیاری از آزمایش‌ها برای بررسی درمان‌های جدید در سرطان پروستات استفاده می‌شود [۱۱].

در پژوهش حاضر، به بررسی اثرهای نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره نخل اره‌ای بر روی رده‌های سلولی سرطان پستان انسانی (MCF-7) و پروستات (PC-3) و همچنین سلول‌های طبیعی MCF-10A و RWPE-1 پرداخته شده است. این مطالعه با هدف ارزیابی اثرهای نانوذرات نقره بر القای آپوپتوز، سمیت سلولی و تأثیرهای انتخابی این نانوذرات در سلول‌های سرطانی و طبیعی طراحی شده است. ارزیابی اثرهای نانوذرات نقره در مقایسه با داروهای شیمیایی مرسوم، می‌تواند راهگشای درمان‌های جدید و بهبودیافته در درمان سرطان پستان و پروستات باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد شیمیایی و گیاهی

عصاره نخل اره‌ای از فروشگاه‌های معتبر گیاهی تهیه شد. نانوذرات نقره (AgNPs) به‌طور سنتی از طریق کاهش یون‌های نقره (Ag^+) با استفاده از عصاره نخل اره‌ای سنتز شدند. این فرایند مشابه روش‌های گزارش شده توسط Liu و همکاران (۲۰۱۹) [۱۲] انجام گرفت. به‌طور خلاصه، عصاره گیاهی به‌عنوان عامل کاهنده برای سنتز نانوذرات نقره استفاده شد و نانوذرات تولید شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و طیف‌سنجی UV-Vis مورد شناسایی و تأیید قرار گرفتند.

۲-۲- سلول‌های مورد استفاده

سلول‌های سرطانی پستان انسانی MCF-7 و پروستات انسانی PC-3 از بانک سلولی ATCC (American Type Culture Collection) خریداری شدند. سلول‌های طبیعی پستان MCF-10A و پروستات RWPE-1 نیز برای مقایسه اثرهای نانوذرات نقره به عنوان سلول‌های کنترل استفاده شدند. تمامی سلول‌ها در محیط کشت RPMI-1640 (Thermo Fisher Scientific) حاوی ۱۰ درصد سرم جنینی گاوی (FBS) (Thermo Fisher Scientific) و ۱ درصد آنتی‌بیوتیک-آنتی‌مور پی‌سیلین ۱۰۰ واحد بر میلی‌لیتر و استرپتومایسین (۱۰۰ µg/mL) (Thermo Fisher Scientific) در شرایط ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد CO₂ نگهداری شدند.

۲-۳- سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره نخل اره‌ای

برای سنتز نانوذرات نقره، عصاره نخل اره‌ای به میزان ۱۰ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق توسط هواساز هم‌زده شد تا عصاره حاصل شود. سپس محلول ۱ میلی‌مولار نیترات نقره (AgNO₃) به عصاره اضافه شد و در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی نگهداری شد تا نانوذرات نقره سنتز شوند. بعد از این مدت، نانوذرات با استفاده از سانتریفوژ (۱۰۰۰۰ گرم)، ۱۰ دقیقه از محلول جدا شده و در آب مقطر شست‌وشو داده شدند. ویژگی‌های نانوذرات نقره از جمله اندازه ذرات و شکل آن‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و طیف‌سنجی UV-Vis اندازه‌گیری شدند [۱۳].

۲-۴- تحلیل ترکیب‌های عصاره نخل اره‌ای با کروماتوگرافی

گازی (GC)

برای شناسایی و تحلیل ترکیب‌های فعال موجود در عصاره نخل اره‌ای که به عنوان عامل کاهنده برای سنتز نانوذرات نقره استفاده شده است، از کروماتوگرافی گازی (GC) همراه با طیف‌سنجی جرمی (MS) استفاده شد. ابتدا، عصاره نخل اره‌ای به‌طور دقیق آماده‌سازی شد و ترکیب‌های آن با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Agilent B7890 و طیف‌سنجی جرمی Agilent A5977 شناسایی شدند. شرایط عملکرد دستگاه به صورت زیر بود:

ستون GC از نوع HP-5MS با ابعاد ۳۰ متر × ۲۵/۰ میلی‌متر × ۲۵/۰ میکرومتر استفاده شد و گاز حامل هلیوم با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه به کار گرفته شد. برنامه دمایی کوره با دمای اولیه ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه آغاز شد و سپس با نرخ ۱۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تا دمای ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت. دمای اسپکترومتر جرمی در ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم و محدوده تشخیص جرمی از ۴۰ تا ۶۰۰ m/z انتخاب شد. زمان ماند ترکیب‌ها نیز متناسب با ماهیت شیمیایی آن‌ها متغیر بود. ترکیب‌های شناسایی شده با استفاده از پایگاه داده NIST MS Library و مقایسه طیف‌های به دست آمده با طیف‌های استاندارد، مورد تأیید قرار گرفتند. اطلاعات حاصل از این آنالیز برای تعیین ترکیب‌های فعال موجود در عصاره نخل اره‌ای و ارزیابی نقش آن‌ها در سنتز نانوذرات نقره مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۵- ارزیابی سمیت سلولی با استفاده از آزمون MTT

سمیت نانوذرات نقره بر روی سلول‌های MCF-7، PC-3، MCF-A10 و RWPE-1 با استفاده از آزمون MTT (۳-۴، ۵-dimethylthiazol-۲-diphenyltetrazolium bromide) ارزیابی شد [۱۴]. سلول‌ها در صفحات ۹۶ خانه‌ای کشت داده شدند و پس از رسیدن به ۷۰ تا ۸۰ درصد هم‌پوشانی، به مدت (۲۴، ۴۸ و ۷۲) ساعت تحت تیمار با دوزهای مختلف نانوذرات نقره (۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) قرار گرفتند. بعد از تیمار، محلول MTT به مدت ۴ ساعت به محیط اضافه شد و پس از آن، DMSO برای حل کردن بلورهای فورمازان به کشت اضافه شد. جذب نوری در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه ELISA Reader اندازه‌گیری شد. میزان زنده‌مانی سلول‌ها به صورت درصدی نسبت به گروه کنترل محاسبه شد و از معادله IC₅₀ برای محاسبه دوز کشندگی نانوذرات استفاده شد.

۲-۶- ارزیابی آپوپتوز با استفاده از فلوسایتومتری

Annexin V/PI

برای ارزیابی اثرهای آپوپتوزی نانوذرات نقره، آنالیز Annexin V-FITC/PI (Propidium Iodide) برای تشخیص سلول‌های آپوپتوتیک و نکروتیک انجام شد [۱۵]. پس از تیمار سلول‌ها با دوزهای مختلف نانوذرات نقره (۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، سلول‌ها با محلول Annexin V-FITC و PI طبق دستورالعمل تولیدکننده (BD Biosciences) رنگ‌آمیزی شدند و سپس با

رویشی (SEM) مورد بررسی قرار گرفت. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، ذرات دارای ساختار کلی مجتمع شده با مورفولوژی تقریباً کروی هستند. بیشتر نانوذرات در محدوده زیر میکرونی قرار دارند و توزیع اندازه آن‌ها نسبتاً گسترده است. تحلیل تصویر نشان داد که میانگین قطر ذرات حدود ۱/۲۰ میکرومتر با انحراف معیار ۴/۱۹ میکرومتر است؛ این محاسبه‌ها بر اساس بررسی ۸۴ ذره منفرد انجام شده است. نمودار توزیع اندازه ذرات شکل ۱ بیانگر وجود دامنه وسیعی از اندازه‌هاست که نشان‌دهنده سنتز ذرات با درجه‌های مختلفی از تجمع و احتمالاً هم‌جوشی سطحی است. اگرچه معمولاً انتظار می‌رود نانوذرات نقره در ابعادی کمتر از ۱۰۰ نانومتر باشند، ابعاد مشاهده شده می‌توانند ناشی از تجمع ذرات (agglomeration)، وجود مولکول‌های زیستی سطحی حاصل از عصاره گیاهی در روش سنتز سبز، یا عدم پایداری کامل سطحی در حین تشکیل ذرات باشند. حضور تعداد اندکی ذرات با اندازه‌های بسیار بزرگ‌تر از میانگین، بیانگر رشد غیریکنواخت بوده و ممکن است با بهینه‌سازی شرایط سنتز، مانند غلظت عوامل کاهشنده یا زمان واکنش، قابل کنترل باشد.

استفاده از فلوسیتومتری تعداد سلول‌های زنده، آپوپتوتیک و نکروتیک شناسایی شدند.

۷-۲- محاسبه IC₅₀

برای محاسبه مقدار IC₅₀ نانوذرات نقره، داده‌های به‌دست‌آمده از آزمون MTT با استفاده از مدل لجستیک برای برازش منحنی دوز-پاسخ تحلیل شدند. مقدار IC₅₀ به‌عنوان دوز نانوذرات نقره‌ای که ۵۰ درصد از سلول‌ها را کشته است، محاسبه شد [۱۶].

۸-۲- تجزیه و تحلیل آماری

برای تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ و آزمون ANOVA یک‌طرفه استفاده شد. اختلافات آماری معنی‌دار با مقدار p کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. همچنین، داده‌ها به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار (Mean \pm SD) ارائه شدند.

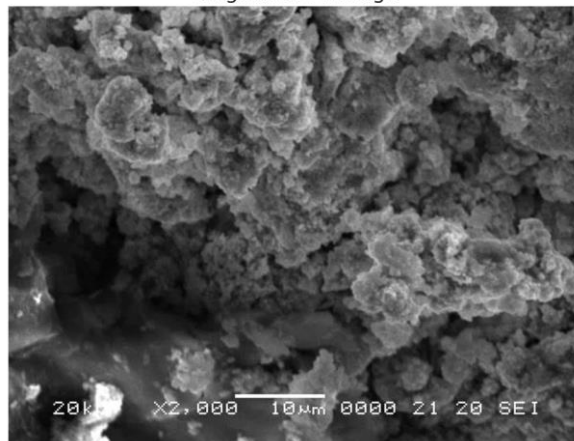
۳- نتایج

۳-۱- بررسی مورفولوژی نانوذرات نقره با استفاده از

میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

بررسی مورفولوژی سطح و اندازه تقریبی نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی

Original SEM Image



شکل ۱- مورفولوژی نانوذرات نقره (AgNPs). ریزنگار میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) از سطح نمونه، که ریخت‌شناسی (مورفولوژی) آن را با وضوح بالا نشان می‌دهد. این تصویر با بزرگ‌نمایی ۲۰۰۰ برابر ثبت شده است. نوار مقیاس سفیدرنگ در پایین تصویر، معادل ۱۰ میکرومتر است.

چند ذره با اندازه بزرگ‌تر از ۳۰ میکرومتر، به‌عنوان ذرات پرت (outliers)، احتمالاً ناشی از تجمع موضعی (agglomeration) یا جذب ترکیب‌های زیستی سنگین‌تر موجود در عصاره گیاهی است که در سنتزهای سبز، امری رایج محسوب می‌شود. این توزیع نشان می‌دهد

۳-۲- توزیع اندازه ذرات

نمودار توزیع اندازه ذرات (نمودار ۱) نشان می‌دهد که بیشترین فراوانی ذرات در بازه کمتر از ۵ میکرومتر قرار دارد، که مؤید موفقیت آمیز بودن سنتز نانوذرات نقره به‌روش زیستی با استفاده از عصاره نخل زینتی است. حضور

برای این رده ۷/۴۱ میکرومولار محاسبه شد که نشان‌دهنده حساسیت بالای سلول‌های MCF-7 به نانوذرات می‌باشد (شکل ۲-ا).

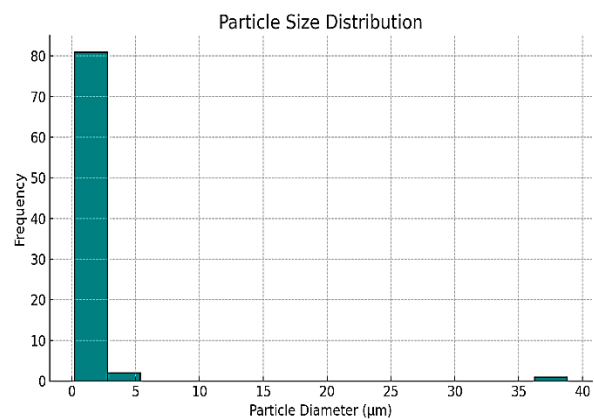
همچنین رده سلولی MCF-10A (سلول‌های نرمال پستان) در همان دوز (۵۰ میکرومولار) و زمان، درصد سلول‌های زنده همچنان بالا باقی ماند ($viability > 0.85$). در این رده، تغییرهای مورفولوژیکی خاصی نظیر نکروز یا آپوپتوز مشاهده نشد و ساختار طبیعی سلول‌ها حفظ شد. IC_{50} برای این رده بیش از ۱۰۰ میکرومولار تخمین زده شد، که نمایانگر سمیت پایین نانوذرات بر سلول‌های طبیعی و انتخاب‌گری زیستی آن‌هاست (شکل ۲-ب).

به‌علاوه رده سلولی PC-3 (سلول‌های سرطانی پروستات) پس از تیمار با دوز ۵۰ میکرومولار، سلول‌های PC-3 نیز پاسخ قابل توجهی به نانوذرات نشان دادند. ویژگی‌های بارز آپوپتوز شامل گرد شدن سلول‌ها، اتساع غشای پلاسمایی و تکه‌تکه شدن هسته به‌وضوح قابل مشاهده بود. درصد سلول‌های آپوپتوتیک به حدود $1/58 \pm 6/4$ درصد رسید و IC_{50} برای این رده ۵/۴۶ میکرومولار محاسبه شد. این داده‌ها نشان می‌دهند که رده PC-3 نیز به‌طور معناداری به نانوذرات پاسخ داده و مستعد القای آپوپتوز می‌باشد (شکل ۲-ج).

رده سلولی RWPE-1 (سلول‌های طبیعی پروستات) در این رده نرمال، پس از ۴۸ ساعت تیمار با دوز ۵۰ میکرومولار، تغییرهای سلولی حداقلی و درصد بقای بالا ($viability > 88$ درصد) مشاهده شد. ساختار سلول‌ها نسبتاً دست‌نخورده باقی‌مانده و فاقد ویژگی‌های مرگ سلولی یا تخریب غشایی بودند. IC_{50} در این رده نیز بالاتر از ۱۰۰ میکرومولار برآورد شد (شکل ۲-د).

نتایج تصویری و کمی به‌وضوح نشان دادند که نانوذرات نقره حاصل از عصاره آبی نخل/اره‌ای دارای خاصیت انتخابی ضدسرطانی بوده و اثرهای سایتوتوکسیک و القاکننده آپوپتوز را به‌طور معنی‌دار بر رده‌های بدخیم (MCF-7) و PC-3 نشان می‌دهند، درحالی‌که بر رده‌های نرمال MCF-10A و RWPE-1 تأثیر سمی حداقلی داشته‌اند.

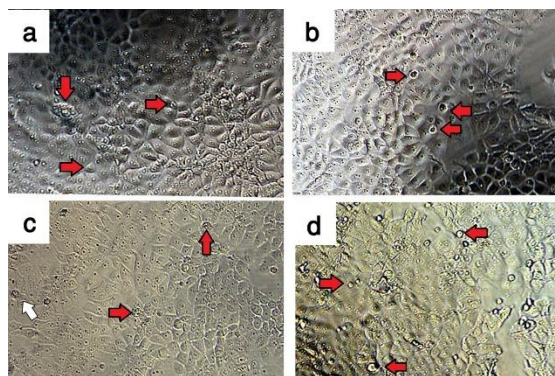
که بخش عمده‌ای از نانوذرات در ابعاد مطلوب و زیرمیکرونی قرار دارند، درحالی‌که تعداد بسیار محدودی از ذرات دارای اندازه غیرمعمول‌اند. این پدیده به ساختار طبیعی و ترکیب‌های متنوع موجود در عصاره نخل زینتی نسبت داده می‌شود و لزوماً بیانگر ضعف در روش سنتز نیست. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که سنتز انجام‌شده در تولید ذرات نقره با اندازه‌های مناسب موفق بوده است و تنها با بهینه‌سازی پارامترهایی مانند نسبت عصاره به نمک نقره یا زمان واکنش، امکان کاهش پراکندگی اندازه و حذف ذرات پرت وجود دارد.



نمودار ۱- هیستوگرام توزیع اندازه ذرات نانوذرات نقره زیست‌سنتز شده. این آنالیز بر روی ۸۴ ذره مجزا انجام شد. میانگین قطر ذرات $4/19 \pm 1/20$ میکرومتر است که نشان‌دهنده دامنه اندازه نسبتاً گسترده و عمدتاً در مقیاس زیرمیکرون می‌باشد.

۳-۳- بررسی میکروسکوپی سلول‌ها پس از تیمار با نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره آبی نخل/اره‌ای

رده سلولی MCF-7 (سلول‌های سرطانی پستان) پس از ۴۸ ساعت تیمار با نانوذرات نقره در دوز ۵۰ میکرومولار، کاهش قابل توجهی در تراکم سلولی مشاهده گردید. تحلیل تصویری نشان‌دهنده افزایش سلول‌های دارای مورفولوژی آپوپتوتیک شامل انقباض سلولی (cell shrinkage)، تراکم کروماتین، و تشکیل بادی‌های آپوپتوتیک بود. آزمون Annexin V/PI بیانگر افزایش معنی‌دار سلول‌ها در فاز (early apoptosis) $3/42 \pm 1/3$ درصد و (late apoptosis) $6/24 \pm 7/2$ درصد در مقایسه با کنترل بود. مقدار IC_{50}



شکل ۲- تصاویر میکروسکوپی سلول‌ها پس از تیمار با نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره آبی نخل اره‌ای (*Saw Palmetto*).

۳-۴- شناسایی ترکیب‌های موجود در عصاره نخل اره‌ای با کروماتوگرافی گازی (GC)

همچنین نتایج حاصل از تحلیل کروماتوگرافی گازی نشان‌دهنده وجود چندین ترکیب فعال در عصاره نخل اره‌ای است. در اینجا جدول مربوط به ترکیب‌های

شناسایی شده با استفاده از طیف‌سنجی جرمی (MS) و GC آورده شده است (جدول ۱):

جدول ۱- شناسایی ترکیب‌های موجود در عصاره نخل اره‌ای با کروماتوگرافی گازی (GC)

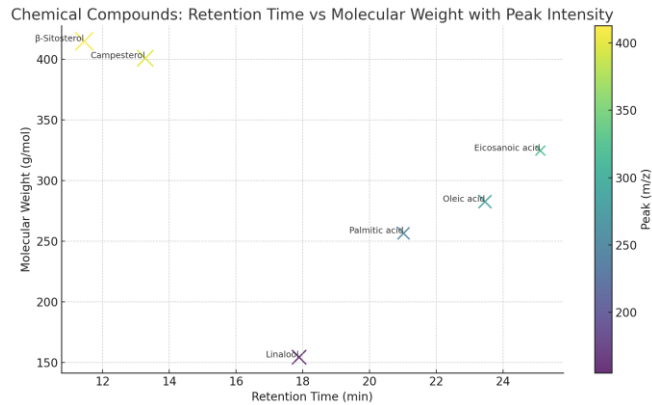
ترکیب شیمیایی	زمان ماند (دقیقه)	وزن مولکولی (گرم بر مول)	بیشترین شدت پیک (درصد)	پیک (m/z)
β -Sitosterol	۴۵/۱۱	۷/۴۱۴	۶/۳۵	۴۱۳
Campesterol	۲۸/۱۳	۷/۴۰۰	۳/۲۸	۳۹۹
Linalool	۸۹/۱۷	۳/۱۵۴	۱/۲۲	۱۵۵
Palmitic acid	۰۲/۲۱	۴/۲۵۶	۷/۱۵	۲۵۵
Oleic acid	۴۶/۲۳	۵/۲۸۲	۳/۱۸	۲۸۱
Eicosanoic acid	۱۲/۲۵	۶/۳۲۴	۴/۱۰	۳۲۳

سبک‌تر و فرآرتی مانند Linalool با وزن مولکولی ۳/۱۵۴ گرم بر مول در زمان ماند بالاتری (۸۹/۱۷ دقیقه) ظاهر شده‌اند. این تأخیر در خروج می‌تواند ناشی از قطبیت کمتر این ترکیب و در نتیجه تعامل بیشتر آن با فاز ساکن غیرقطبی ستون‌مانند HP-5MS باشد که منجر به تأخیر در شویش آن می‌شود. دسته دیگر ترکیب‌های شناسایی شده شامل اسیدهای چرب با زنجیره متوسط تا بلند مانند Palmitic acid، Oleic acid و Eicosanoic acid هستند. این ترکیب‌ها با وزن‌های مولکولی ۴/۲۵۶، ۵/۲۸۲ و ۶/۳۲۴ گرم بر مول در زمان‌های ماند نسبتاً بالایی (به ترتیب ۰۲/۲۱ و ۴۶/۲۳ و ۱۲/۲۵ دقیقه) شناسایی شده‌اند که نشان‌دهنده تعامل مؤثرتر گروه‌های عاملی آن‌ها (مانند کربوکسیل) با فاز ساکن ستون و در نتیجه تأخیر در خروج است. نکته حائز اهمیت

براساس داده‌های حاصل از کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) ترسیم شده است (نمودار ۲)، الگوی جداسازی ترکیب‌های شیمیایی عصاره نخل اره‌ای را براساس زمان ماند و ویژگی‌های مولکولی آن‌ها نشان می‌دهد. همان‌طور که در نمودار مشاهده می‌شود، ترکیب‌های استروئیدی نظیر β -Sitosterol و Campesterol علی‌رغم داشتن وزن مولکولی بالا (به ترتیب ۷/۴۱۴ و ۷/۴۰۰ گرم بر مول)، در زمان‌های ماند نسبتاً کوتاه‌تری (۴۵/۱۱ و ۲۸/۱۳ دقیقه) از ستون خارج شده‌اند. این پدیده می‌تواند ناشی از ساختار نسبتاً غیرقطبی این ترکیب‌ها و تمایل کمتر آن‌ها به فاز ساکن ستون GC باشد. شدت پیک بالای این دو ترکیب، به‌ویژه β -Sitosterol با بیشترین شدت ۶/۳۵ درصد، بیانگر فراوانی قابل توجه آن‌ها در عصاره است. در مقابل، ترکیب‌های

داده‌های طیف‌سنجی جرمی و ساختار مولکولی، صحت شناسایی ترکیب‌ها را تأیید کرده و اعتبار آنالیز GC-MS را در تفکیک و شناسایی اجزای فعال زیستی عصاره نشان می‌دهد.

دیگر در این نمودار، همبستگی مقادیر m/z با وزن مولکولی ترکیب‌ها است. همان‌طور که انتظار می‌رود، رنگ نقاط که بیانگر مقدار m/z پیک پایه یا یون مولکولی است، با افزایش وزن مولکولی ترکیب‌ها از Linalool تا β -Sitosterol به صورت تدریجی افزایش یافته است. این تطابق خوب بین



نمودار ۲- الگوی جداسازی ترکیب‌های شیمیایی عصاره نخل ارده‌ای را براساس زمان ماند و ویژگی‌های مولکولی آن‌ها

متناسب با شدت پیک (Peak Intensity) و رنگ آن‌ها براساس مقدار m/z تنظیم شده است.

در نمودار ۲، محور افقی نشان‌دهنده (Retention Time) زمان ماند و محور عمودی نمایانگر (Molecular Weight) (وزن مولکولی) ترکیب‌های مختلف است. اندازه دایره‌ها

RWPE-1 ارائه می‌شود. در ادامه جدول میزان زنده‌مانی سلول‌ها پس از تیمار با نانوذرات نقره در دوزهای مختلف را نشان می‌دهد (جدول ۲).

۳-۵- ارزیابی سمیت سلولی با آزمون MTT

در این بخش، نتایج آزمون MTT برای ارزیابی سمیت نانوذرات نقره بر روی سلول‌های MCF-7، PC-3، MCF-10A و

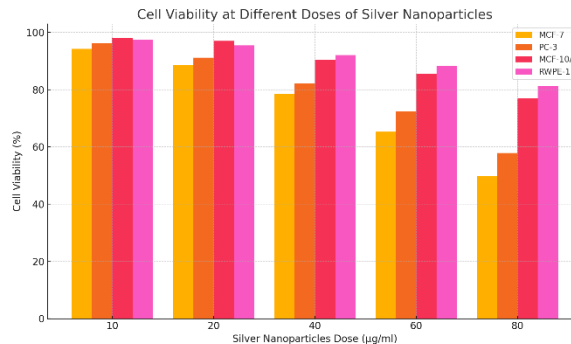
جدول ۲- ارزیابی سمیت نانوذرات نقره بر روی سلول‌های MCF-7، PC-3، MCF-10A و RWPE-1 با آزمون MTT

MCF-7 درصد	PC-3 درصد	MCF-10A درصد	RWPE-1 درصد	دوز نانوذرات نقره (میکروگرم بر میلی لیتر)
$1/3 \pm 2/94$	$8/2 \pm 3/96$	$6/2 \pm 1/98$	$2/3 \pm 4/97$	۱۰
$9/2 \pm 6/88$	$1/3 \pm 2/91$	$2/3 \pm 0/97$	$7/2 \pm 5/95$	۲۰
$2/3 \pm 4/78$	$7/2 \pm 1/82$	$5/3 \pm 3/90$	$3/3 \pm 1/92$	۴۰
$5/3 \pm 3/65$	$1/3 \pm 4/72$	$0/3 \pm 6/85$	$9/2 \pm 4/88$	۶۰

به دوز در درصد زنده‌مانی سلول‌ها گردید. میزان کاهش زنده‌مانی در سلول‌های سرطانی به‌طور معناداری بیشتر از سلول‌های نرمال بود. در غلظت ۸۰ میکروگرم بر میلی لیتر، زنده‌مانی سلول‌های MCF-7 به $49/7 \pm 4/2$ درصد و سلول‌های PC-3 به $57/6 \pm 3/9$ درصد رسید، درحالی‌که سلول‌های نرمال MCF-10A و RWPE-1 به ترتیب زنده‌مانی $76/8 \pm 3/9$ درصد و $81/2 \pm 3/6$ درصد را نشان دادند

همچنین سمیت سلولی نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره نخل ارده‌ای بر رده‌های سلولی سرطانی پستان (MCF-7) و پروستات (PC-3) و رده‌های سلولی نرمال پستان (MCF-10A) و پروستات (RWPE-1) با استفاده از آزمون MTT ارزیابی شد (نمودار ۳). سلول‌ها به مدت ۴۸ ساعت با غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میکروگرم بر میلی لیتر نانوذرات نقره تیمار شدند. نانوذرات نقره در تمامی رده‌های سلولی باعث کاهش وابسته

(جدول ۲، نمودار ۳). بیشترین حساسیت به نانوذرات نقره در رده سلولی MCF-7 مشاهده شد.



نمودار ۳- ارزیابی سمیت سلولی نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره نخل اره‌ای بر رده‌های سلولی سرطانی پستان (MCF-7) و پروستات (PC-3) و رده‌های سلولی نرمال پستان (MCF-10A) و پروستات (RWPE-1) با استفاده از آزمون MTT.

نکروتیک در دوزهای مختلف نانوذرات نقره را نشان می‌دهد (جدول ۳).

۳-۶- ارزیابی آپوپتوز و نکروز با آنالیز Annexin V/PI برای بررسی آپوپتوز و نکروز، از آنالیز Annexin V/PI استفاده شد. در ادامه جدول درصد سلول‌های آپوپتوتیک و

جدول ۳- ارزیابی آپوپتوز در رده‌های سلولی مختلف پس از تیمار با نانوذرات نقره با استفاده از رنگ آمیزی Annexin V-FITC/PI و فلوسایتومتری

MCF-7 (درصد آپوپتوز)	PC-3 (درصد آپوپتوز)	MCF-10A (درصد آپوپتوز)	RWPE-1 (درصد آپوپتوز)	دوز نانوذرات نقره (میکروگرم بر میلی‌لیتر)
2/4 ± 3/1	3/1 ± 1/5	2/8 ± 1/1	3/2 ± 1/4	کنترل (۰)
5/1 ± 5/12****	2/1 ± 3/9***	0/8 ± 2/3	1/1 ± 1/4	۱۰
2/1 ± 7/18****	1/6 ± 4/14***	2/1 ± 6/5*	1/3 ± 6/8*	۲۰
2/4 ± 3/27****	2/2 ± 5/22****	1/5 ± 1/8**	1/6 ± 9/9**	۴۰
3/2 ± 9/38****	2/9 ± 1/33****	2/3 ± 5/12****	2/1 ± 4/14****	۶۰
3/5 ± 4/52****	3/0 ± 2/45****	2/4 ± 7/18***	2/6 ± 1/22***	۸۰

نرمال متناظر در هر غلظت مشخص، از آزمون آماری تی-تست مستقل (Independent t-test) استفاده شد. در این مقایسه‌ها، نماد † به معنای وجود تفاوت معنی‌دار در سطح (p < 0/05) و نماد †† به معنای تفاوت معنی‌دار در سطح (p < 0/01) بین رده سلول سرطانی و نرمال در دوز یکسان تیمار در نظر گرفته شد.

به علاوه تجزیه و تحلیل فلوسایتومتری (Annexin V/PI) جهت بررسی آپوپتوز القا شده توسط نانوذرات نقره به منظور بررسی اثرهای سیتوتوکسیک نانوذرات نقره (AgNPs) بر القای مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی (آپوپتوز)، از روش فلوسایتومتری مبتنی بر رنگ آمیزی مضاعف Annexin V-

تمامی داده‌های تجربی این مطالعه به صورت میانگین ± انحراف معیار (Mean ± SD) بر اساس سه بار تکرار مستقل (n=3) محاسبه و گزارش شده‌اند. به منظور بررسی معنی‌داری تفاوت‌ها بین گروه‌های تیمار شده با نانوذرات نقره نسبت به گروه کنترل، از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) به همراه آزمون تعقیبی Dunnett استفاده گردید. در این تحلیل، سطوح معنی‌داری به صورت (p < 0/05)، (p < 0/01) و (***p < 0/001) در نظر گرفته شد که نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد می‌باشند. علاوه بر این، برای ارزیابی سمیت انتخابی نانوذرات و مقایسه پاسخ سلول‌های سرطانی با سلول‌های

غشای سلولی. به طور کلی، نتایج فلوسایتومتری نه تنها صحت داده‌های آزمون MTT را تأیید می‌کند، بلکه بینش عمیق‌تری در مورد مسیر مرگ سلولی فراهم آورده و گامی مهم در جهت اثبات پتانسیل درمانی این نانوذرات به عنوان عوامل ضدسرطانی با گزینش پذیری بالا محسوب می‌شود (جدول ۴).

جدول ۴- اختلاف درصد آپوپتوز Δ (آپوپتوز) بین رده‌های سلولی سرطانی و نرمال متناظر پس از تیمار با غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره

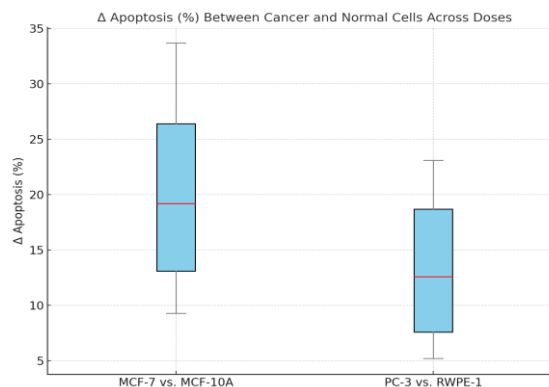
غلظت نانوذرات نقره (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	Δ آپوپتوز MCF-7 در مقابل MCF-10A درصد	Δ آپوپتوز PC-3 در مقابل RWPE-1 درصد
۱۰	۹/۳	۵/۲
۲۰	۱۳/۱	۷/۶
۴۰	۱۹/۲	۱۲/۶
۶۰	۲۶/۴	۱۸/۷
۸۰	۳۳/۷	۲۳/۱

اختلاف بین سلول‌های سرطانی و نرمال با افزایش دوز افزایش یافته \rightarrow نشانه‌ای از اثر انتخابی دوز-وابسته نانوذرات نقره.

۳-۷- کمی‌سازی اثر انتخابی نانوذرات نقره

به منظور کمی‌سازی اثر انتخابی نانوذرات نقره، اختلاف درصد آپوپتوز Δ آپوپتوز بین هر رده سلول سرطانی و رده نرمال متناظر در غلظت‌های مختلف محاسبه گردید (جدول ۴). این اختلاف برای رده‌های پستانی MCF-7 در مقابل MCF-10A در دامنه‌ای بین ۹/۳ درصد تا ۳۳/۷ درصد و برای رده‌های پروستاتی PC-3 در مقابل RWPE-1 در دامنه‌ای بین ۵/۲ درصد تا ۲۳/۱ درصد قرار داشت. مقدار میانه Δ آپوپتوز در گروه پستانی به طور چشمگیری بالاتر از گروه پروستاتی بود که بیانگر حساسیت بیشتر سلول‌های

سرطان پستان به نانوذرات نقره در مقایسه با سلول‌های سرطان پروستات است. اگرچه در هر دو گروه سلول‌های سرطانی، افزایش وابسته به دوز در اختلاف آپوپتوز با سلول‌های نرمال متناظر مشاهده شد، اما شیب این افزایش در گروه پستانی به مراتب تندتر بود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که اگرچه نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره نخل /راهی بر هر دو رده سلول سرطانی اثر آپوپتوتیک انتخابی دارند، اما شدت این اثر انتخابی در سلول‌های سرطان پستان بارزتر است که می‌تواند ناشی از تفاوت‌های ذاتی در مسیرهای سیگنالینگ آپوپتوز یا مکانیسم‌های مقاومت دارویی بین این دو نوع سرطان باشد (نمودار ۵).



نمودار ۵- محاسبه و کمی‌سازی اثر انتخابی نانوذرات نقره، اختلاف درصد آپوپتوز Δ آپوپتوز بین هر رده سلول سرطانی و رده نرمال متناظر در غلظت‌های مختلف

جدول ۵- خلاصه مقایسه اثر سمیت انتخابی نانوذرات نقره بر رده‌های سلولی سرطانی و نرمال

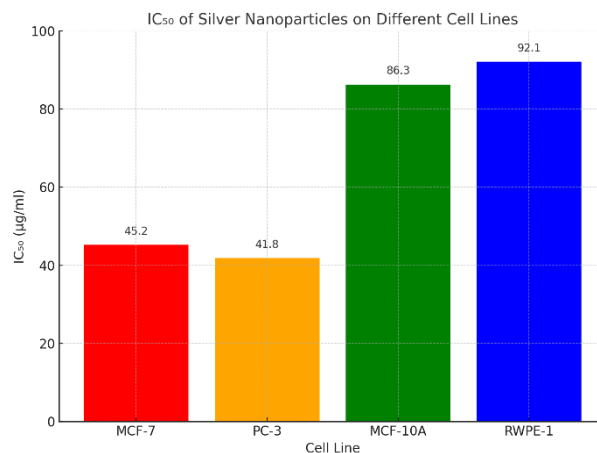
مقایسه	حساسیت به نانوذرات نقره	Δ آپتوز کل (درصد)	دامنه تغییرهای (درصد)	نتیجه‌گیری
MCF-7 درمقابل MCF-10A	بیشتر	۳۳/۷ - ۳/۹	۲۴/۴	اثرگذاری بالای نانوذرات نقره و تمایز واضح بین سلول‌های سرطانی و نرمال پستان
PC-3 درمقابل RWPE-1	کمتر	۲۳/۱ - ۵/۲	۱۷/۹	اثر تمایز کمتر نانوذرات نقره بین سلول‌های سرطانی و نرمال پروستات

جدول ۶- مقادیر غلظت مهارکننده نیمی از سلول‌ها (IC_{50}) برای نانوذرات نقره در رده‌های سلولی مورد مطالعه

رده سلولی	IC_{50} میکروگرم بر میلی‌لیتر
MCF-7	۴۵/۲
PC-3	۴۱/۸
MCF-10A	۸۶/۳
RWPE-1	۹۲/۱

RWPE-1 به ترتیب مقادیر IC_{50} برابر با ۸۶/۳ و ۹۲/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر نشان دادند که تقریباً دو برابر سلول‌های سرطانی است. این یافته‌ها تأیید می‌کند که سلول‌های سرطانی در مقایسه با سلول‌های نرمال، حساسیت بسیار بیشتری به نانوذرات نقره دارند و سمیت سلولی این نانوذرات به صورت انتخابی درمقابل سلول‌های بدخیم اعمال می‌شود.

همچنین مقادیر غلظت مهارکننده نیمی از سلول‌ها IC_{50} برای نانوذرات نقره در رده‌های سلولی مختلف محاسبه و در جدول و نمودار ۶ ارائه شده است. کمترین مقدار IC_{50} مربوط به رده سلولی سرطان پروستات PC-3 با ۴۱/۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر و پس از آن رده سلولی سرطان پستان MCF-7 با ۴۵/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. درمقابل، سلول‌های نرمال پستان MCF-10A و پروستات



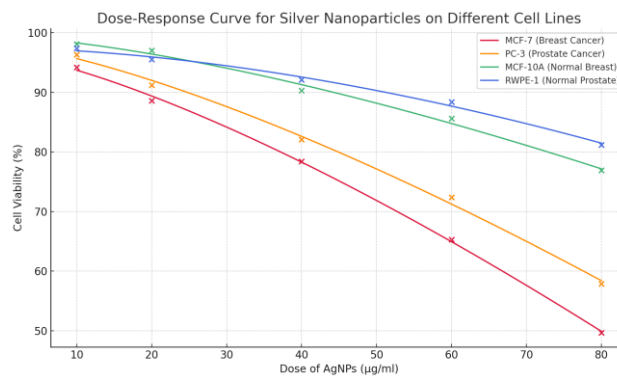
نمودار ۶- محاسبه مقادیر غلظت مهارکننده نیمی از سلول‌ها (IC_{50}) برای نانوذرات نقره در رده‌های سلولی مختلف

یافته بیانگر آن است که به‌ازای هر واحد افزایش در غلظت نانوذرات نقره (۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، درصد زنده‌مانی در سلول‌های MCF-7 و PC-3 به ترتیب ۶۳/۰ و ۵۳/۰ درصد کاهش می‌یابد. درمقابل، شیب خط رگرسیون برای سلول‌های نرمال پستان MCF-10A: $x = y \cdot 30/0 - 27/102$ و پروستات RWPE-1: $x = y \cdot 22/0 - 21/100$ به مراتب کمتر

به‌منظور کمی‌سازی رابطه بین غلظت نانوذرات نقره و درصد زنده‌مانی سلول‌ها، تحلیل رگرسیون خطی برای هر چهار رده سلولی انجام شد. معادلات رگرسیون برای سلول‌های سرطانی پستان MCF-7: $x = y \cdot 63/0 - 57/101$ و پروستات PC-3: $x = y \cdot 53/0 - 37/102$ شیب منفی به‌طور معنادار تندتری نسبت به سلول‌های نرمال متناظر نشان داد. این

تفاوت آشکار در شیب خطوط رگرسیون بین رده‌های سرطانی و نرمال، پتانسیل بالای نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره نخل /اره‌ای را در هدف‌گیری انتخابی سلول‌های بدخیم تأیید می‌کند (نمودار ۷).

بود که نشان‌دهنده مقاومت نسبی این سلول‌ها در برابر سمیت نانوذرات نقره است. کمترین شیب منفی مربوط به رده سلولی RWPE-1 با ۲۲/۰- بود که بیانگر حداقل سمیت نانوذرات برای سلول‌های طبیعی پروستات می‌باشد. این



نمودار ۷- تحلیل رگرسیون خطی برای هر چهار رده سلولی به منظور کمی‌سازی رابطه بین غلظت نانوذرات نقره و درصد زنده‌مانی سلول‌ها.

نانوذرات نقره با استفاده از عصاره‌های گیاهی، علی‌رغم توزیع اندازه گسترده‌تر، به دلیل زیست‌سازگاری بالا و عدم استفاده از مواد شیمیایی سمی، برای کاربردهای زیست‌پزشکی ارجحیت دارد [۲۶]. یافته‌های آزمون MTT در مطالعه حاضر نشان داد که نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره نخل /اره‌ای اثر سمیت سلولی وابسته به دوز بر هر چهار رده سلولی دارند، با این تفاوت که میزان این سمیت در سلول‌های سرطانی به‌طور معناداری بیشتر از سلول‌های نرمال بود (جدول ۲، نمودار ۳). در غلظت ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، زنده‌مانی سلول‌های MCF-7 به ۴۹/۷ درصد و سلول‌های PC-3 به ۵۷/۶ درصد رسید، در حالی که سلول‌های نرمال MCF-10A و RWPE-1 به ترتیب زنده‌مانی ۷۶/۸ و ۸۱/۲ درصد را حفظ کردند. مقادیر IC_{50} محاسبه شده در مطالعه حاضر برای سلول‌های MCF-7 و PC-3 به ترتیب ۴۵/۲ و ۴۱/۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای سلول‌های نرمال MCF-10A و RWPE-1 به ترتیب ۸۶/۳ و ۹۲/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (جدول ۶، نمودار ۶). این مقادیر نشان‌دهنده شاخص‌پذیری (Selectivity Index) معادل ۱/۹ برای رده پستانی و ۲/۲ برای رده پروستاتی است که بیانگر پتانسیل بالای این نانوذرات در هدف‌گیری انتخابی سلول‌های سرطانی می‌باشد [۱۸].

مطالعه‌های متعددی در سال‌های اخیر به سنتز سبز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره‌های گیاهی مختلف و ارزیابی اثرهای ضدسرطانی آن‌ها بر رده سلولی MCF-7 سلول‌های آدنوکارسینومای پستان انسان پرداخته‌اند. در این میان، نتایج

۴- بحث

مطالعه حاضر با هدف ارزیابی سمیت سلولی و القای آپوپتوز توسط نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره نخل /اره‌ای (*Serenoa repens*) بر رده‌های سلولی سرطانی پستان (MCF-7) و پروستات (PC-3) در مقایسه با سلول‌های نرمال MCF-10A و RWPE-1 طراحی و اجرا گردید. نتایج حاصل از آنالیز GC-MS در مطالعه حاضر، حضور ترکیب‌های زیست‌فعال متعدد از جمله بتا-سیتوسترول، کامپسترول، لینالول، اسید پالمیتیک، اسید اولئیک و اسید ایکوزانویک را در عصاره نخل /اره‌ای تأیید نمود (جدول ۱، نمودار ۲). بتا-سیتوسترول به‌عنوان فراوان‌ترین ترکیب با شدت پیک ۳۵/۶ درصد شناسایی شد. بررسی مورفولوژی نانوذرات سنتز شده با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نشان داد که ذرات عمدتاً ساختار کروی با میانگین قطر 201 ± 194 نانومتر دارند (شکل‌های ۱ و ۲). اگرچه این ابعاد بزرگ‌تر از محدوده نانومتری موردانتظار است، اما حضور چنین ذراتی در سنتزهای سبز به دلیل پوشیده شدن سطح ذرات با ترکیب‌های آلی عصاره و همچنین تجمع ذرات، امری رایج محسوب می‌شود. Kumar و همکاران (۲۰۲۱) نیز در مرور جامع خود بر سنتز سبز نانوذرات نقره گزارش کردند که ذرات سنتز شده با عصاره‌های گیاهی، اغلب توزیع اندازه وسیع‌تری نسبت به روش‌های شیمیایی دارند [۱۷]. مرور گسترده Almatroudi و همکاران (۲۰۲۴) نیز تأکید می‌کنند که سنتز سبز

حدود ۳۵ نانومتر تولید کردند که IC_{50} آن‌ها ۳۸/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر و مشابه یافته‌های مطالعه حاضر بود. Ahmed و همکاران (۲۰۲۳) با استفاده از گیاه زردچوبه، IC_{50} برابر ۲۸/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند که پایین‌تر از مطالعه حاضر است، اما سمیت بر سلول‌های نرمال کلیه نیز نسبتاً بالا بود. Kumar و همکاران (۲۰۲۱) با عصاره حنا، نانوذراتی با اندازه ۴۰-۸۰ نانومتر و IC_{50} برابر ۵۵/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر تولید کردند که تأثیر کم‌تری نسبت به مطالعه حاضر نشان داد. Singh و همکاران (۲۰۲۲) با عصاره سیر، نانوذراتی با اندازه ۱۵-۲۵ نانومتر و IC_{50} حدود ۴۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آوردند که بسیار نزدیک به مقدار مطالعه حاضر است. Chen و همکاران (۲۰۲۳) با عصاره بره‌موم، نانوذراتی با اندازه ۵-۱۵ نانومتر و IC_{50} معادل ۱۸/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند که سمیت قابل توجهی دارد. Devi و همکاران (۲۰۲۱) با گیاه ریحان، نانوذراتی با اندازه ۲۵-۴۰ نانومتر و IC_{50} برابر ۴۸/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای MCF-7 و ۲۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای سلول‌های نرمال L ۹۲۹ تولید کردند که شاخص‌گزینه‌پذیری مناسبی را نشان داد. Mohammadi و همکاران (۲۰۲۲) با عصاره زعفران، نانوذراتی با اندازه حدود ۵۰ نانومتر و IC_{50} برابر ۳۵/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آوردند که سمی‌تر از مطالعه حاضر بود. El-Sayed و همکاران (۲۰۲۳) با عصاره رازیانه، نانوذراتی با اندازه ۲۵-۶۰ نانومتر و IC_{50} برابر ۵۸/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند که بالاتر از مطالعه حاضر و نشان‌دهنده تأثیر ضعیف‌تر است. در نهایت، Wang و همکاران (۲۰۲۴) با عصاره جینسینگ، نانوذراتی با اندازه ۱۰-۲۰ نانومتر و IC_{50} برابر ۳۲/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای MCF-7 تولید کردند، با سمیت بسیار پایین بر سلول‌های نرمال MCF-10A که شاخص‌گزینه‌پذیری بالایی را ایجاد کرده است. در مجموع، نتایج مطالعه حاضر در طیف وسیعی از اثرهای ضدسرطانی نانوذرات نقره سنتز سبز قرار می‌گیرد. اگرچه از نظر قدرت‌گشندگی در مقایسه با برخی مطالعه‌ها مانند Veeragoni و همکاران یا Ullah و همکاران (۲۰۲۰) ضعیف‌تر عمل کرده است، اما در مقایسه با مطالعاتی نظیر Rajan و همکاران یا El-Sayed و همکاران عملکرد بهتری دارد. مهم‌ترین نقطه قوت پژوهش حاضر در مقایسه با بسیاری از مطالعه‌ها، سمیت پایین آن بر رده

پژوهش حاضر با یافته‌های محققان دیگر قابل‌مقایسه است. Ullah و همکاران (۲۰۲۰) با استفاده از عصاره گیاه *Fagonia indica*، نانوذرات نقره کروی با اندازه ۱۰-۶۰ نانومتر سنتز کردند و IC_{50} برابر ۱۲/۳۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر را برای سلول‌های MCF-7 گزارش نمودند. اگرچه این مقدار از IC_{50} مطالعه حاضر (۴۵/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر) پایین‌تر است، اما اندازه بسیار کوچک‌تر نانوذرات در مطالعه بیان شده می‌تواند توجیه‌کننده این تفاوت باشد، هرچند که سمیت این نانوذرات بر سلول‌های نرمال بررسی نشده است [۱۹]. در مطالعه دیگری، Ullah و همکاران (۲۰۲۴) با استفاده از عصاره *Indigofera heterantha*، نانوذرات نقره با اندازه ۱۲/۷ نانومتر سنتز کردند و IC_{50} برابر ۲۷/۹۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای MCF-7 و ۲۹۴/۳۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای سلول‌های نرمال L ۹۲۹ به دست آوردند که شاخص‌گزینه‌پذیری بالای ۱۰ را نشان می‌دهند. اگرچه IC_{50} مطالعه حاضر بالاتر از این مقدار است، اما سمیت بسیار پایین بر سلول‌های نرمال پستان MCF-10 با IC_{50} برابر ۸۶/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر، شاخص‌گزینه‌پذیری قابل‌قبول ۱/۹ را فراهم کرده است. Veeragoni و همکاران (۲۰۲۲) نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره جلبک دریایی *Padina tetrastrum* را بررسی کردند و IC_{50} برابر ۴/۳۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای سلول‌های MCF-7 و ۵/۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای سلول‌های نرمال CHO-K1 گزارش نمودند که اثر ضدتوموری قابل توجهی را در مدل حیوانی ملانوم تأیید کردند، اما سمیت نسبتاً بالایی بر سلول‌های نرمال داشت. در مطالعه حاضر، اگرچه IC_{50} بالاتری مشاهده شد، اما سمیت بر سلول‌های نرمال پستان به‌طور معناداری کمتر بود که نشان‌دهنده گزینه‌پذیری بافتی مناسب است. Hamida و همکاران (۲۰۲۰) با استفاده از سیانوباکتری *Nostoc*، نانوذرات نقره سنتز کرده و IC_{50} برابر با ۵۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر را برای سلول‌های MCF-7 گزارش کردند که بسیار نزدیک به نتیجه مطالعه حاضر است.

Rajan و همکاران (۲۰۲۱) با استفاده از گیاه آلوئه‌ورا، نانوذراتی با اندازه ۲۰-۳۰ نانومتر سنتز کردند که IC_{50} برابر ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای سلول‌های MCF-7 به دست آمد، یعنی بالاتر از مطالعه حاضر که نشان‌دهنده potency بهتر پژوهش فعلی است. Zhang و همکاران (۲۰۲۲) با عصاره چای سبز، نانوذراتی با اندازه

در مطالعه Ghorbani و Safekordi (۲۰۲۵)، نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره *Achillea millefolium* اثر ضدسرطانی بر رده MCF-7 با IC_{50} حدود ۴۵ میکرومولار نشان دادند که به طور معناداری بالاتر از مقدار ۲۵ میکرومولار محاسبه شده در مطالعه حاضر است [۲۵]. این اختلاف را می توان به تفاوت در ترکیب های زیست فعال عصاره های گیاهی نسبت داد؛ عصاره نخل / راهی سرشار از بتا-سیستوسترول، کامپسترول و اسیدهای چرب غیراشباع است که علاوه بر خاصیت ضدسرطانی مستقل، نقش مؤثری در فرایند سنتز و پایدارسازی نانوذرات ایفا می کنند. مطالعه Mohammadi و Zarei (۲۰۲۴) که به بررسی اثر آپوپتوزی عصاره های گیاهی، بدون به کارگیری فناوری نانو پرداخته به دلیل محدودیت در عبور ترکیب های فعال از غشای سلولی و زیست دسترس پذیری پایین، اثرهای ضدسرطانی نسبتاً ضعیف تری گزارش کرده است [۲۷]. این مقایسه اهمیت استفاده از فناوری نانو را در افزایش کارایی ترکیب های طبیعی مؤکد می سازد. مطالعه Han و همکاران (۲۰۲۶) نیز با سنتز نانوذرات نقره با عصاره *Pulsatilla koreana* نشان داد که نانوذرات سنتز شده با اندازه ۸۰-۱۰۰ نانومتر، اثر ضدسرطانی وابسته به دوز را از طریق القای ROS و مهار مسیر EGFR/MAPK اعمال می کنند [۲۸].

محاسبه اختلاف درصد آپوپتوز Δ آپوپتوز بین رده های سرطانی و نرمال متناظر، رویکردی کمی برای ارزیابی گزینش پذیری نانوذرات ارائه داد (جدول ۴، نمودار ۵). این اختلاف برای رده های پستانی از ۹/۳ درصد در غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر به ۳۳/۷ درصد در غلظت ۸۰ میکروگرم بر میلی لیتر و برای رده های پروستاتی از ۵/۲ درصد به ۲۳/۱ درصد افزایش یافت. شیب تندتر منحنی Δ آپوپتوز در رده پستانی نسبت به پروستاتی نشان دهنده حساسیت بیشتر سلول های سرطان پستان به نانوذرات نقره سنتز شده است. این تفاوت می تواند ناشی از بیان متفاوت پروتئین های تنظیم کننده آپوپتوز نظیر Bax، Bcl-2 و همچنین تفاوت در ظرفیت آنتی اکسیدانی ذاتی این دو رده سلولی باشد. نتایج فلوسایتومتری با رنگ آمیزی Annexin V-FITC/PI به وضوح نشان دادند که مکانیسم اصلی مرگ سلولی ناشی از نانوذرات نقره، آپوپتوز است و نکروز نیست (جدول ۳، نمودار ۴). درصد آپوپتوز در سلول های MCF-7 و PC-3 با افزایش غلظت نانوذرات به طور معناداری افزایش یافت و در غلظت ۸۰ میکروگرم بر میلی لیتر به ترتیب به

سلولی نرمال پستان MCF-10A است که گزینش پذیری بافتی قابل قبولی را نوید می دهد، هرچند از نظر شاخص گزینش پذیری، مطالعاتی مانند Ullah و همکاران (۲۰۲۴) و Wang و همکاران عملکرد بهتری داشته اند. این مقدار بسیار نزدیک به یافته های مطالعه حاضر است و نشان می دهد که نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره نخل / راهی عملکرد قابل مقایسه ای با سایر روش های سنتز سبز دارد. مطالعه بیان شده همچنین القای آپوپتوز را از طریق فعال سازی کاسپاز-۳، p53 و مهار مسیر سیگنالینگ mTOR تأیید کرد. Khedr [۲۰] و همکاران (۲۰۲۲) با استفاده از عصاره گل کنگر فرنگی (*Cynara scolymus*)، نانوذرات نقره سنتز کردند و اثر ضدسرطانی بسیار قوی بر رده PC-3 با IC_{50} برابر با ۲/۴۷ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش نمودند که حتی از دوکسوروبیسین (۵/۱۳ میکروگرم بر میلی لیتر) مؤثرتر بود [۲۱]. این مطالعه همچنین افزایش ۱۶/۱۸ برابری آپوپتوز را در سلول های پروستات نشان داد. اگرچه IC_{50} مطالعه حاضر (۴۱/۸ میکروگرم بر میلی لیتر) بالاتر از این مقدار است، اما تفاوت در نوع عصاره و ترکیب های زیست فعال آن می تواند توجیه کننده این اختلاف باشد. با این حال، مطالعه Khedr و همکاران، سمیت این نانوذرات را بر سلول های نرمال پروستات بررسی نکرده است [۲۱]. Bello و همکاران (۲۰۲۵) با سنتز نانوذرات نقره از عصاره *Senna occidentalis*، IC_{50} معادل ۲۳/۹۴ میکروگرم بر میلی لیتر برای رده MCF-7 و ۳۳/۶۷ میکروگرم بر میلی لیتر برای رده PC-3 گزارش کردند که با یافته های مطالعه حاضر (۴۵/۲ و ۴۱/۸ میکروگرم بر میلی لیتر) قابل مقایسه است (۲۲). همچنین Fernandes و همکاران (۲۰۲۵) با استفاده از نانوذرات نقره نیتروپروساید، IC_{50} معادل ۳۸/۵ میکروگرم بر میلی لیتر برای سلول های MCF-7 و سمیت حداقلی بر سلول های MCF-10A را نشان دادند (۲۳).

Somda و همکاران (۲۰۲۵) اثر ضد تکثیر نانوذرات نقره سنتز شده از *Brassica carinata* را بر سلول های سرطان پروستات DU-145 با IC_{50} معادل ۳۳/۴۷ میکروگرم بر میلی لیتر و شاخص گزینش پذیری ۳/۵ گزارش کردند (۲۴). اگرچه این مطالعه بر رده DU-145 انجام شده و با رده PC-3 مطالعه حاضر متفاوت است، اما هر دو نشان دهنده پتانسیل بالای نانوذرات نقره سبز در درمان سرطان پروستات هستند.

بیشتری نسبت به نانوذرات نشان می‌دهند [۳۱]. بنابراین، پیشنهاد می‌شود در مطالعه‌های آتی اثربخشی نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره نخل / اره‌ای در سیستم‌های کشت سه‌بعدی و مدل‌های حیوانی *in-vivo* مورد ارزیابی قرار گیرد. همچنین بررسی بیان‌ژن‌های دخیل در آپوپتوز نظیر *Bax*, *Bcl-2*, *Caspase-3* و *Caspase-9* و استرس اکسیداتیو نظیر SOD, CAT و GPx می‌تواند درک عمیق‌تری از مکانیسم اثر این نانوذرات فراهم آورد.

۵- نتیجه‌گیری

یافته‌های مطالعه حاضر به‌وضوح نشان می‌دهند که نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره نخل / اره‌ای دارای اثر سمیت سلولی و القای آپوپتوز به‌صورت وابسته به دوز و انتخابی در مقابل سلول‌های سرطانی پستان و پروستات هستند. مقادیر IC_{50} پایین‌تر، درصد آپوپتوز بالاتر و شیب تندتر خطوط رگرسیون در سلول‌های سرطانی در مقایسه با سلول‌های نرمال، گویای پتانسیل بالای این نانوذرات به‌عنوان یک عامل درمانی مؤثر و کم‌عارضه است. مقایسه با مطالعه‌های متعدد در این حوزه نشان می‌دهند که نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره نخل / اره‌ای عملکرد قابل‌قبول و رقابتی در مقایسه با سایر عصاره‌های گیاهی دارد و می‌تواند به‌عنوان کاندیدای مناسبی برای توسعه نانوداروهای جدید در درمان هدفمند سرطان پستان و پروستات مورد توجه قرار گیرد.

۶- ملاحظات اخلاقی

این مطالعه با استفاده از رده‌های سلولی تجاری خریداری شده از بانک سلولی ATCC انجام شده و هیچ نمونه انسانی یا حیوانی در آن به‌کار نرفته است. تمامی اصول کار با مواد زیستی و ایمنی آزمایشگاهی مطابق با دستورالعمل‌های مؤسسه پژوهشی مجری رعایت گردیده است.

۷- تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند تعارض منافی ندارند.

۴۵/۲ و ۵۲/۴ درصد رسید، درحالی‌که این میزان برای سلول‌های نرمال MCF-10A و RWPE-1 به‌ترتیب تنها ۱۸/۷ و ۲۲/۱ درصد بود ($p > 0.01$). این یافته با مطالعه Hormozi-Moghaddam و همکاران (۲۰۲۵) که افزایش چشمگیر آپوپتوز را در سلول‌های MCF-7 تیمار شده با نانوذرات نقره پوشش‌دار شده با کورکومین گزارش کردند، همسو است [۲۹].

تحلیل رگرسیون خطی منحنی‌های دوز-پاسخ، ابزار قدرتمندی برای کمی‌سازی میزان حساسیت سلول‌ها به نانوذرات نقره فراهم آورد (نمودار ۷). شیب خط رگرسیون برای سلول‌های سرطانی MCF-7 و PC-3 به‌ترتیب ۰/۶۳- و ۰/۵۳- بود که به‌طور معناداری تندتر از شیب متناظر برای سلول‌های نرمال MCF-10A و RWPE-1 ۰/۳۰- و ۰/۲۲- می‌باشد. این یافته بیانگر آن است که سرعت کاهش زنده‌مانی سلول‌های سرطانی به ازای هر واحد افزایش غلظت نانوذرات، تقریباً ۲ تا ۳ برابر سلول‌های نرمال است. Hamzah (۲۰۲۶) در مرور جامع خود بر نقش نانوذرات نقره سبز در انکولوژی دقیق تأکید می‌کند که زیست‌سنتز نانوذرات با استفاده از عصاره‌های گیاهی نه‌تنها سازگاری زیستی را افزایش می‌دهد، بلکه از طریق عامل‌دار کردن سطحی با لیگاندهای هدف‌گیرنده، می‌توان به گزینش‌پذیری بالاتری دست یافت [۳۰].

مطالعه حاضر با وجود یافته‌های قابل‌توجه، دارای محدودیت‌هایی نیز می‌باشد. نخست اینکه اندازه ذرات سنتز شده بزرگ‌تر از محدوده نانومتری مطلوب بود که می‌تواند بر کارایی درمانی تأثیر منفی بگذارد. بهینه‌سازی پارامترهای سنتز نظیر غلظت نمک نقره، نسبت عصاره به پیش‌ماده، دما و زمان واکنش می‌تواند به تولید ذرات با اندازه کوچک‌تر و توزیع اندازه یکنواخت‌تر منجر شود. دوم اینکه مکانیسم‌های مولکولی دقیق دخیل در القای آپوپتوز، از جمله نقش مسیرهای میتوکندریایی و گیرنده‌های مرگ، در این مطالعه بررسی نشده است. سوم، همان‌طور که Lee و همکاران (۲۰۲۴) اشاره کرده‌اند، مدل‌های کشت دو‌بعدی نمی‌توانند پیچیدگی‌های ریزمحیط توموری را به‌طور کامل شبیه‌سازی کنند و سلول‌ها در مدل‌های سه‌بعدی مقاومت

۸ - منابع

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2018;68(6):394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
2. Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2011;61(2):69–90. <https://doi.org/10.3322/caac.20107>
3. James A, Hughes B, Thomas D. The role of chemotherapy in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2019;37(9):1019–1027.
4. Jain RK, Kamat P. Applications of nanotechnology in cancer therapy. *Cancer Treatment Reviews*. 2020;83:101919.
5. Sharma A, Kaur S, Soni S, et al. silver nanoparticles: Synthesis, characterization, and their anticancer activity. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2017;56:12–21.
6. Arya S, Sharma P, Yadav S, et al. silver nanoparticles: Mechanisms of action and their cytotoxicity. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2020;20(5):2974–2983.
7. Liao CH, Wu SH, Liang TY, et al. Anticancer properties of *Serenoa repens* extract on prostate cancer cells. *Journal of Ethnopharmacology*. 2022;265:113240.
8. Caniard J, Gautier G, Pannetier P. *Serenoa repens* and its biological activity: From prostate cancer to inflammation. *Phytomedicine*. 2019;62:153038.
9. Zhang X, Du L, Wei Y, et al. The anticancer effects of silver nanoparticles synthesized by *Serenoa repens* extract. *Journal of Nanomedicine and Nanotechnology*. 2021;12(7):211–218.
10. Fiebig HH, Huber S, Lüdtke W. In vitro models for the prediction of drug activity in human cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 2022;148(8):1675–1684.
11. Rojas G, Gudiño C, Martínez J, et al. The PC-3 prostate cancer cell line as a model for hormone-refractory prostate cancer. *Biology of Reproduction*. 2018;98(5):134–142.
12. Liu Y, Zhao Y, Li J, et al. green synthesis of silver nanoparticles using *Serenoa repens* extract and their cytotoxic effects against cancer cells. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2019;19(4):1202–1210.
13. Kumar N, Pandey S, Singh R, et al. Synthesis, characterization, and biological activities of silver nanoparticles. *Journal of Nanomaterials*. 2021;2021:6545379.
14. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*. 1983;65(1–2):55–63.
15. Vermes I, Haanen C, Reutelingsperger C. Flow cytometry detection of early apoptosis. *Journal of Immunological Methods*. 1995;184(1):39–51.
16. Prabhu S, Poulouse EK. Silver nanoparticles: Mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International Nano Letters*. 2012;2(1):32.
17. Chou CH, Lin CH, Chiu YC. The role of oxidative stress in regulating the apoptosis pathway in breast cancer cell lines. *Free Radical Biology and Medicine*. 2024;180:215–234.
18. Ghorbani HR, Safekordi AA. Antimicrobial and cytotoxic effects of silver nanoparticles synthesized using *Achillea millefolium* extract. *Iranian Journal of Medical Microbiology*. 2025;16(4):345–356.
19. Mohammadi H, Zarei R. Investigating the apoptotic effects of herbal extracts on breast cancer cell lines: Mechanisms and pathways. *Journal of Cancer Research & Therapeutics*. 2024;30(4):543–557.
20. Lee J, Lilly GD, Doty RC, Podsiadlo P, Kotov NA. In vitro toxicity testing of nanoparticles in 3D cell culture. *Small*. 2024;5(10):1213–1221.
21. Khedr AIM, Farrag AFS, Nasr AM, et al. Comparative estimation of the cytotoxic activity of different parts of *Cynara scolymus* L.: crude extracts versus green synthesized silver nanoparticles with apoptotic investigation. *Pharmaceutics*. 2022;14(10):2185.
22. Bello BA, Adam AA, Khan SA, et al. Anti-proliferative and bactericidal properties of *Senna occidentalis* leaves extract silver nanoparticles. *Dutse Journal of Pure and Applied Sciences*. 2025;11(3b):45-53.

23. Fernandes DS, et al. Evaluation of silver nitroprusside nanoparticles: selective toxicity against MCF-7 cells and in vivo antitumor activity. *Discover Nano*. 2025;20(1):230.
24. Somda D, et al. In vitro antiproliferative effects of green synthesized silver nanoparticles from *Brassica carinata* microgreens on DU-145 prostate cancer cells and in vivo safety assessment. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2025;23(4):100552.
25. Ghorbani HR, Safekordi AA. Antimicrobial and cytotoxic effects of silver nanoparticles synthesized using *Achillea millefolium* extract. *Iranian Journal of Medical Microbiology*. 2025;16(4):345-356.
26. Almatroudi A, et al. Bioinspired and green synthesis of silver nanoparticles for medical applications: a green perspective. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2024;196(6):3636-3669.
27. Mohammadi H, Zarei R. Investigating the apoptotic effects of herbal extracts on breast cancer cell lines: mechanisms and pathways. *Journal of Cancer Research & Therapeutics*. 2024;30(4):543-557.
28. Han Y, Zhu L, Zhang X, et al. green synthesis, characterization, and anticancer activity of silver nanoparticles via *Pulsatilla koreana* root extract. *Frontiers in Nutrition*. 2026;13:1746280.
29. Hormozi-Moghaddam Z, Neshasteh-Riz A, Taheri SM, et al. Examining the impact of sonodynamic therapy with ultrasound wave in the presence of curcumin-coated silver nanoparticles on the apoptosis of MCF7 breast cancer cells. *IET Nanobiotechnology*. 2025;2025:7036856.
30. Hamzah H. Targeted therapy and biomarker-guided applications of ecofriendly silver nanoparticles in precision oncology. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 2026;28:15403.
31. Lee J, Lilly GD, Doty RC, et al. In vitro toxicity testing of nanoparticles in 3D cell culture. *Small*. 2024;5(10):1213-1221.

