

Original Article

Effects of curcumin-loaded amine-functionalized mesoporous silica nanoparticles on apoptosis induction and cell cycle arrest in RPMI-8226 multiple myeloma cell line

Maziar Nasiri¹, Gholamreza Anani Sarab², Mahtab Sayadi², Mehdi Shakibaie^{3,4*}

¹ Student Research Committee, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

² Cellular and Molecular Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

³ Department of Pharmaceutics and Nanotechnology, School of Pharmacy, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

⁴ Pharmaceutical Sciences Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

*Corresponding author: Mehdi Shakibaie

Tel: +985632381924

Fax: +985632048321

E-mail: m.shakibaie@bums.ac.ir

ABSTRACT

Background and Aims: Multiple Myeloma (MM) is an incurable hematologic malignancy characterized by the dysregulation of apoptosis and cell cycle processes. The present study aimed to investigate the effects of curcumin-loaded amine-functionalized mesoporous silica nanoparticles (MSNs-NH₂-Cur) on apoptosis induction and cell cycle phase alterations in RPMI-8226 multiple myeloma cell.

Materials and Methods: In this experimental study, MSNs were synthesized using modified Stöber method and subsequently functionalized with amine groups. The synthesized nanoparticles were characterized using Transmission electron microscopy (TEM) images and Dynamic Light Scattering (DLS) analysis. MSNs-NH₂ were then loaded with curcumin, and the percentages of encapsulation efficiency and loading efficiency were measured. RPMI-8226 cells were cultured in RPMI-1640 media and their viability was assessed after 24- and 48-hour treatments with various concentrations of MSNs-NH₂-Cur using the MTT assay. Following 24-hour treatment of RPMI-8226 cells with IC₅₀ concentration, cell cycle distribution was examined through Propidium iodide staining, and apoptosis was evaluated using the Annexin V-PI kit via flow cytometry.

Results: TEM images and DLS analysis demonstrated the morphology and uniform size distribution of the nanoparticles. The loading efficiency was relatively satisfactory; moreover, a slow and sustained release of curcumin from MSN-NH₂ was observed. MSNs-NH₂-Cur reduced the viability of RPMI-8226 cells in a concentration- and time-dependent manner ($P < 0.001$). Flow cytometric analysis clearly illustrated cell cycle arrest in the G₀/G₁ phase (32.276% to 46.233%) ($P < 0.01$) and induction of apoptosis.

Conclusion: As evidenced by the obtained results, MSNs-NH₂-Cur significantly decreased cell viability in a concentration- and time-dependent manner, somewhat induced apoptosis, and caused cell cycle arrest.

Keywords: Apoptosis, Cell cycle, Curcumin-loaded amine-functionalized mesoporous silica nanoparticles, Multiple myeloma



Citation: Maziar Nasiri M, Anani Sarab Gh, Sayadi M, Shakibaie M. [Effects of curcumin-loaded amine-functionalized mesoporous silica nanoparticles on apoptosis induction and cell cycle arrest in RPMI-8226 multiple myeloma cell line]. Journal of Translational Medical Research. 2025; 32(?): In press. [Persian]

DOI <http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2025.32.?.?????>

Received: June 25, 2025

Accepted: July 28, 2025

Copyright © 2025, Journal of Translational Medical Research. This open-access article is available under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 (CC BY-NC 4.0) International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), which allows for the copying and redistribution of the material only for noncommercial purposes, provided that the original work is properly cited.



بررسی اثر نانوذرات سیلیکا آمینه بارگذاری شده با کورکومین در القای آپوپتوز و توقف چرخه سلولی در رده سلولی RPMI-8226 مالتیپل میلوما

مازیار نصیری^۱، غلامرضا عنانی سراب^۲، مهتاب صیادی^۲، مهدی شکیبایی^۳*
^۴

چکیده

زمینه و هدف: مالتیپل میلوما یک بدخیمی خونی غیرقابل درمان است که از مشخصه‌های آن اختلال در تنظیم فرایندهای آپوپتوز و چرخه سلولی است. هدف از این مطالعه، بررسی اثر نانوذرات سیلیکای مزومتخلخل عامل‌دار شده با آمین بارگذاری شده با کورکومین (MSNs-NH₂-Cur) بر القای آپوپتوز و تغییرات مراحل چرخه سلولی در رده سلولی مالتیپل میلوما RPMI-8226 بود.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، نانوذرات سیلیکا مزومتخلخل با استفاده از روش اصلاح‌شده Stöber سنتز و سپس با گروه‌های آمین عامل‌دار شدند. نانوذرات سنتز شده و با استفاده از تصاویر میکروسکوپ الکترونی (TEM) آنالیز پراکندگی نور دینامیکی (DLS) مشخصه‌یابی شدند. سپس نانوذرات سیلیکا آمینه با کورکومین بارگذاری شدند و درصد کارایی انکپسولاسیون و کارایی بارگذاری اندازه‌گیری شد. سلول‌های RPMI-8226 در محیط کشت RPMI-1640 کشت داده شدند و زنده‌مانی سلولی آن‌ها پس از تیمار ۲۴ و ۴۸ ساعته با غلظت‌های مختلف MSNs-NH₂-Cur با استفاده از روش MTT ارزیابی شد. پس از تیمار ۲۴ ساعته سلول‌های RPMI-8226 با غلظت IC₅₀، توزیع چرخه سلولی از طریق رنگ‌آمیزی پروپیدیم دید و آپوپتوز با استفاده از کیت Annexin V-PI از طریق فلوسایتومتری ارزیابی شدند.

یافته‌ها: تصاویر TEM و آنالیز DLS، مورفولوژی و توزیع اندازه یکنواخت نانوذرات را نشان دادند. کارایی بارگذاری نسبتاً رضایت‌بخش بود و آزادسازی آهسته و پایدار کورکومین از MSN-NH₂ مشاهده شد. MSNs-NH₂-Cur به صورت وابسته به غلظت و زمان، زنده‌مانی سلول‌های RPMI-8226 را کاهش داد ($P < 0.001$). آنالیز فلوسایتومتری به وضوح توقف چرخه سلولی در فاز G₀/G₁ (۳۲/۲۷۶٪ به ۴۶/۲۳۳٪) ($P < 0.001$) و القای آپوپتوز را نشان داد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد MSNs-NH₂-Cur که به‌طور قابل توجهی زنده‌مانی سلولی را به صورت وابسته به غلظت و زمان کاهش داد، تا حدودی باعث آپوپتوز شد و موجب توقف چرخه سلولی گردید.

واژه‌های کلیدی: آپوپتوز، چرخه سلولی، نانوذرات سیلیکا آمینه بارگذاری شده با کورکومین، مالتیپل میلوما

مجله تحقیقات پزشکی ترجمانی. ۱۴۰۴؛ ۳۲ (۲): در حال انتشار.

دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۰۴ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۰۶

^۱ کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

^۲ مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

^۳ گروه فارماسیوتیکس و نانو تکنولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

^۴ مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

***نویسنده مسئول:** گروه فارماسیوتیکس و نانو تکنولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

آدرس: بیرجند- دانشگاه علوم پزشکی بیرجند- دانشکده داروسازی- گروه فارماسیوتیکس و نانو تکنولوژی

تلفن: ۰۵۶۳۳۳۸۱۹۲۴ نمابر: ۰۵۶۳۳۲۰۴۸۳۲۱ پست الکترونیکی: m.shakibaie@bums.ac.ir

مقدمه

مالتیپل میلوما (MM^1) یک بدخیمی غیرقابل درمان است که در آن پلاسماسل‌ها به صورت کنترل نشده در مغز استخوان تکثیر می‌یابند (۱). براساس برآوردهای انجمن سرطان آمریکا در سال ۲۰۲۵، حدود ۲۰۴۱۹۱۰ مورد جدید سرطان و ۶۱۸۱۲۰ مورد مرگ مرتبط با آن در ایالات متحده پیش‌بینی شده است (۲). از طرفی بیشترین افزایش درصد سرطان از سال ۱۹۹۰ تا ۲۰۱۶ در ایران، مربوط به مالتیپل میلوما با نرخ ۳۰۲/۴٪ بوده است (۳). به کارگیری روش‌های درمانی مختلف باعث افزایش میانگین بقای کلی بیماران از محدوده یک تا دو سال به هفت تا هشت سال شده و برخی از بیماران به بقای طولانی مدت می‌رسند (۴). در سال‌های اخیر، نانوذرات به عنوان یکی از فناوری‌های پیشرفته و پرکاربرد در داروسازی مورد توجه قرار گرفته‌اند. این ذرات با اندازه‌های کمتر از ۱۰۰ نانومتر، ویژگی‌های منحصر به فردی دارند که از جمله آن‌ها می‌توان به افزایش حلالیت داروها، بهبود پایداری و امکان حمل هدفمند داروها به سلول‌ها و بافت‌های خاص اشاره کرد (۵). رویکردهای فعلی مورد استفاده برای درمان سرطان با محدودیت‌های بالینی مانند القای عوارض جانبی شدید، MDR^2 و اختصاصیت کم نسبت به سلول‌های سرطانی متاستاتیک مواجه هستند. نانومواد هیبریدی^۳ پتانسیل بالایی برای غلبه بر همه این چالش‌ها دارند. در میان نانوذرات هیبریدی، آن‌هایی که مبتنی بر سیلیس مزو^۴ متخلخل ($MSNs^5$) هستند، به دلیل خواص برجسته‌شان جایگاه ممتازی را در زمینه زیست‌پزشکی به دست آورده‌اند. این شبکه منافذ منظم، با همگنی اندازه خود، ظرفیت بارگذاری^۶ بالا و کینتیک آزادسازی^۷ کنترل شده را امکان پذیر می‌کند. همچنین دارای چندین ویژگی منحصر به فرد مانند سطح بالا، حجم منافذ بزرگ، ساختار منافذ قابل تنظیم، زیست سازگاری^۸ بالا و پایداری شیمیایی است. بنابراین به دلیل این ویژگی‌های ساختاری، ظرفیت بارگذاری داروی

آب‌گریز^۹ یا آب‌دوست^{۱۰} افزایش می‌یابد و از این مواد غیر سمی برای حمل ایمن عوامل ضدسرطان استفاده می‌شود (۶). کورکومین^{۱۱} یکی از اصلی‌ترین مواد فعال زیستی زردچوبه است که از ریزوئید *Curcuma longa* جدا شده و از آن معمولاً به عنوان رنگ دهنده و افزودنی مواد غذایی استفاده می‌شود. برای این ترکیب فنلی فعال و غیرسمی، طیف گسترده‌ای از خواص درمانی به ویژه فعالیت ضدسرطانی شامل ضدتکثیر، ضدگرزایی، آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهای و ضدجهشی ذکر شده است. کورکومین باعث القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی می‌شود و از MDR جلوگیری می‌کند. کورکومین به شدت پلئوتروپیک است و اهداف ضدسرطانی که بر آن تأثیر می‌گذارد شامل $NF-\kappa B$ ، $CCND1^{12}$ ، $Bcl-xl^{13}$ ، Wnt/β -catenin، $PI3K/Akt/mTOR$ ، $STAT3^{14}$ ، $Bcl-2$ و $IL-6$ است (۷، ۸). همچنین باعث توقف چرخه سلولی سلول‌های میلومایی در فاز G_0/G_1 و کاهش ترشح M -پروتئین/پارا پروتئین می‌شود (۹). همچنین از آن به عنوان یک عامل بالقوه پیشگیری‌کننده از شیمی‌درمانی نیز ذکر شده است. کورکومین به راحتی در سیتوپلاسم سلول‌ها نفوذ می‌کند و در ساختارهای غشایی مانند غشای پلاسمایی، شبکه آندوپلاسمی و پوشش هسته تجمع می‌یابد. اما به دلیل فراهمی زیستی کم، ناپایداری ساختار شیمیایی و اکسیداسیون آسان، کاربرد آن محدود شده است (۱۰). بنابراین می‌توان آن را از طریق فن‌آوری‌های سیستم تحویل دارو^{۱۵}، به ویژه سیستم‌های دارورسانی مبتنی بر فناوری نانو، برای جبران فراهمی زیستی/فارماکوکینتیک ضعیف آن استفاده کرد (۱۱). با این وجود اثر نانوذرات سیلیکا آمینه بارگذاری شده با کورکومین بر سلول‌های مالتیپل میلوما همچنان مشخص نیست. بنابراین هدف اصلی از این مطالعه بررسی اثر نانوذرات سیلیکا آمینه بارگذاری شده با کورکومین در القای آپوپتوز و توقف چرخه سلولی در رده سلولی RPMI-8226 مالتیپل میلوما است.

⁹ hydrophobic¹⁰ hydrophilic¹¹ Curcumin = (E,E)-1,7-bis(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione, Diferuloylmethane, Diferuloylmethane, Natural Yellow 3¹² Cyclin D1¹³ B-cell lymphoma-extra Large¹⁴ Signaling Transducer and Activator of Transcription¹⁵ Drug delivery system technologies¹ Multiple Myeloma² Multi-drug resistance³ Hybrid nanomaterials = composed of organic and inorganic materials⁴ Pore diameters between 2 and 50 nm⁵ Mesoporous Silica Nanoparticles⁶ load⁷ release⁸ biocompatibility

روش تحقیق

سنتز نانوذرات سیلیکا مزو متخلخل آمینه

MSNs توسط یک فرآیند خودآرایی کاتالیز شده اولیه یک مرحله‌ای (modified Stöber) سنتز شدند (۱۲) و سپس توسط گروه‌های آمین عامل‌دار شدند. به‌طور خلاصه، ۱ گرم $CTAB^1$ (Alfa Aesar, UK) در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دی‌یونیزه حل شد و به دنبال آن ۱۵ میلی‌لیتر سدیم هیدروکسید ۲ مولار به آن اضافه شد. سپس مخلوط هم زده شد تا شفاف شود و تا دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد گرم شد. سپس یک میلی‌لیتر $TEOS^2$ (Merck, Germany) به آرامی اضافه شد تا محلولی همگن به دست آید و به مدت ۴ ساعت به شدت هم زده شد. محصول به‌دست آمده چندین مرتبه با آب دی‌یونیزه سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه) و شسته شد. پس از پایان شستشو، به رسوب سیلیکا موجود محلول رفلاکس^۳ (Reflux) اضافه شد و پس از سونیکیت کردن به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قرار داده شد. پس از گذشت مدت زمان مذکور، مخلوط را سانتریفیوژ کرده و مایع رویی دور ریخته شد. در نهایت پس از دور ریختن مایع رویی، اضافه کردن آب دی‌یونیزه به رسوب باقی‌مانده و سونیکیت کردن، محلول برروی شیشه ساعت ریخته شد و در درون آن با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا خشک گردد. به منظور تهیه MSNs- NH_2 ، نانو ذرات سیلیکا مزو متخلخل سنتز شده از مرحله قبل را در اتانول حل کرده و سونیکیت شده تا یک مخلوط همگن به‌دست آید. سپس $APTES^4$ به آرامی اضافه شد و به مدت ۴ ساعت به‌شدت هم زده شد. محصول به‌دست آمده سانتریفیوژ شده و چندین بار با آب فوق خالص شسته شد و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید.

مشخصه‌یابی نانوذرات سیلیکا آمینه

به‌منظور تعیین اندازه نانوذرات سیلیکا آمینه از دستگاه DLS^5 (NanoBrook 90plus PALS) استفاده شده است همچنین

¹ Cetyltrimethylammonium bromide² Tetraethyl orthosilicate^۳ طرز تهیه محلول 1ml HCL + 99ml Ethanol 96% = Reflux⁴ (3-Aminopropyl)triethoxysilane⁵ Dynamic Light Scattering

تصویربرداری به‌منظور تعیین اندازه، مورفولوژی و ریخت‌شناسی نانوذرات سیلیکا آمینه با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (Zeiss - EM10C - 100 kV) نیز انجام شد.

بارگذاری نانوذرات سیلیکا آمینه با کورکومین

جذب رقت‌های مختلف کورکومین محلول در اتانول ۹۹/۸٪ (جدول ۱) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ماکزیمم جذب کورکومین (۴۲۴ نانومتر) در مقابل بلانک اتانول ۹۹/۸٪ با استفاده از کوت شیشه‌ای خوانش شد و نمودار استاندارد آن رسم گردید. به‌منظور بارگذاری، ۲۵۰ میلی‌گرم کورکومین را به ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۹/۸٪ اضافه کرده و پس از سونیکاسیون به مدت ۴۵ دقیقه بر روی همزن قرار داده شد تا کاملاً حل شود. سپس مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم نانوذرات سیلیکا آمینه به ارلن اضافه گشت و پس از سونیکاسیون به مدت ۲۴ ساعت بر روی همزن قرار داده شد. سپس تمامی محتویات فالكون به ۲۵ میکروتیوب ۲ میلی‌لیتر منتقل گردید و سانتریفیوژ (۵ دقیقه، ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه) شد. سپس سوپ رویی تخلیه گردید و تمامی رسوب‌ها را به آرامی با آب دی‌یونیزه شسته تا رنگ باقی‌مانده در سطح که باعث اشتباه در جذب می‌شود، از بین برود. سپس به هر میکروتیوب ۵۰۰ میکرولیتر آب فوق خالص اضافه گردید و پس از پیتاژ محتویات میکروتیوب‌ها برروی ۲ شیشه ساعتی جمع گردید. شیشه‌های ساعتی به آن ۳۷ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید تا خشک شوند. براین اساس در حین و بعد از بارگذاری نانوذرات سیلیکا آمینه با کورکومین به ترتیب با استفاده از فرمول‌های ذیل، $EE^6\%$ و $LE^7\%$ محاسبه شد.

$$EE = \frac{\text{مقدار دارو براساس وزن خوانش شده از سوپ رویی} - \text{کل مقدار دارو اضافه شده به نانوذرات}}{\text{کل مقدار دارو اضافه شده به نانوذرات}} \times 100$$

$$LE = \frac{\text{مقدار دارو موجود در نانوذرات}}{\text{مقدار کل نانوذرات}} \times 100$$

⁶ Encapsulation Efficiency⁷ Loading Efficiency

رهایش نانوذرات سیلیکا آمینه بارگذاری شده با کورکومین

مطالعات رهایش^۱ در ۲ محیط مجزا^۲ PBS (pH=۷/۴) و اتانول ۳۰٪ در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام شد. بدین منظور میزان ۱۰ میلی‌گرم از نانوذرات سیلیکا آمینه بارگذاری شده با کورکومین در درون ۲ ارلن جداگانه پوشیده شده با فویل حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر PBS و ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۳۰٪ حل شد. سپس در زمان‌های صفر، ۱۰ و ۳۰ دقیقه و همچنین ۱، ۳، ۲۴ و ۴۸ ساعت به‌صورت دوپلیکیت از هر ارلن ۵۰۰ میکرولیتر محلول (در مجموع یک میلی‌لیتر از هر ارلن) برداشته و سانتریفیوژ (۵ دقیقه، ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه) شد (در هر بار برداشت محلول از هر ارلن، بایستی معادل حجم برداشت شده با استفاده از حلال مدنظر جایگزین گردد). سپس مایع رویی با استفاده از حلال مربوطه ۵۰٪ رقیق گشت. در نهایت محتویات هر میکروتیوب با استفاده از اسپکتروفتومتر در مقابل بلانک مربوطه (استفاده از حلال) در طول موج ۴۲۴ نانومتر خوانش شد. مقدار کورکومین آزاد شده با مقایسه جذب محتویات هر میکروتیوب با جذب محلول نانوذرات سیلیکا آمینه بارگذاری شده با کورکومین با غلظت و LE مشخص، محاسبه شد.

ارزیابی حیات سلولی

سلول‌های RPMI-8226 با دانسیته ۲۵ هزار بر میلی‌لیتر در پلیت ۹۶ خانه ریخته شد. گروه تیمار حاوی سلول‌ها، محیط کشت RPMI-1640 با سرم گاوی (FBS^۳) ۱۰٪ و MSNs-NH₂-Cur بود. گروه کنترل منفی حاوی سلول‌ها و محیط کشت RPMI-1640 با سرم گاوی ۱۰٪ و گروه بلانک حاوی محیط کشت RPMI-1640 با سرم گاوی ۱۰٪ و MSNs-NH₂-Cur مورد استفاده برابر با یک، ۲/۵، ۵، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. حجم نهایی هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر در نظر گرفته شد. سپس، پلیت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد حاوی ۵٪ CO₂ به‌مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت قرار

گرفت. پس از مدت زمان مربوطه، مقدار ۲۰ میکروگرم محلول MTT^۴ (۵ میلی‌گرم پودر MTT محلول در یک میلی‌لیتر PBS، Life Biolab، Germany) به هر چاهک اضافه گردید. پس از انکوبه کردن به مدت ۳ ساعت در انکوباتور، میزان ۱۰۰ میکرولیتر دی متیل سولفوکساید (DMSO^۵، Samchun، Republic of Korea) به هر چاهک اضافه شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه درون انکوباتور قرار گرفت. در نهایت جذب نوری (OD^۶) هر چاهک توسط دستگاه نانودراپ (BioTek Epoch Microplate Spectrophotometer) در طول موج‌های ۵۷۰ و ۶۳۰ نانومتر قرائت شد و میزان زنده‌مانی با استفاده از فرمول:

$$\frac{[OD(\text{تیمار}) - OD(\text{بلانک})]}{[OD(\text{کنترل}) - OD(\text{بلانک})]} \times 100$$

محاسبه شد. غلظت مورد نظر برای ادامه آزمایشات مطابق با IC₅₀^۷ به دست آمده در هر گروه تیمار در نظر گرفته شد.

فلوسایتومتری

سلول‌های RPMI-8226 با دانسیته ۲۵ هزار بر میلی‌لیتر در فلاسک T₂₅ به‌عنوان کنترل منفی و همین میزان سلول در معرض MSNs-NH₂-Cur با غلظت IC₅₀ ۲۴ ساعته برای گروه تیمار، قرار گرفت. پس از مدت زمان مذکور، سلول‌های حاصل به ۲ بخش تقسیم شد و برای آنالیز چرخه سلولی و بررسی آپوپتوز مورد استفاده قرار گرفت.

آنالیز چرخه سلولی

آنالیز چرخه سلولی با استفاده از دستگاه فلوسایتومتری FACS Calibur (Sysmex, Germany) مطابق با روش استاندارد رنگ‌آمیزی پروپیدیوم یدید (PI^۸) (۱۳) برای بررسی هرگونه تغییر در فازهای چرخه سلولی انجام شد.

^۴ 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide

^۵ Dimethylsulfoxide

^۶ Optical density

^۷ Half maximal inhibitory concentration

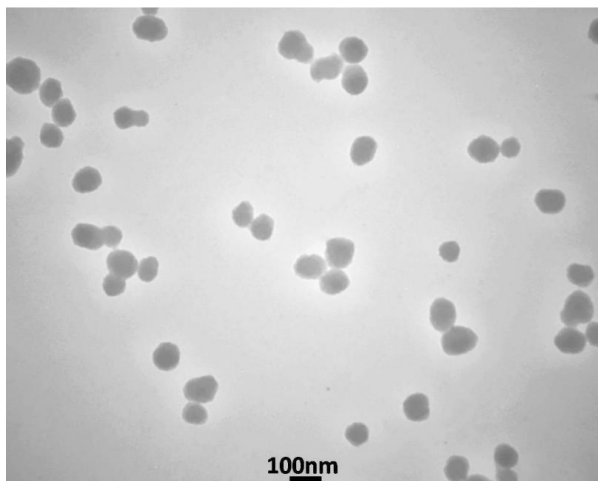
^۸ Propidium Iodide

^۱ Release

^۲ Phosphate Buffered Saline

^۳ Fetal bovine serum

هیدرودینامیک نانوذرات سیلیکا آمینه $237/85 \pm 13/2$ بود. شاخص پراکندگی (PDI^3) برابر با $0/15$ بود که نشان دهنده توزیع یکنواخت سایز نانوذرات است. همچنین تصاویر میکروسکوپ الکترونی (شکل ۱) نشان داد که نانوذرات مذکور بیضی شکل هستند و با استفاده از نرم افزار Image J قطر نانوذرات $97/2 \pm 10$ تعیین شد.



شکل ۱- مشخصه یابی نانوذرات سیلیکا آمینه با میکروسکوپ الکترونی عبوری

منحنی استاندارد کورکومین

جذب رقت های مختلف کورکومین (جدول ۱) در طول موج ماکزیم جذب آن (۴۲۴ نانومتر) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در مقابل بلانک اتانول $99/8\%$ با استفاده از کوت شیشه ای خوانش شد و با استفاده از آن، منحنی استاندارد کورکومین (شکل ۲) با ضریب همبستگی $0/9923$ به دست آمد.

درصد بارگذاری نانوذرات سیلیکا آمینه بارگذاری شده با کورکومین

با استفاده از فرمول های ذکر شده و خوانش مربوطه توسط دستگاه اسپکتروفتومتری، $EE\%$ و $LE\%$ نانوذرات سیلیکا آمینه بارگذاری شده با کورکومین به ترتیب 70% و $5/27\%$ بود.

بررسی مرگ سلولی با استفاده از کیت Annexin V – PI

آپوپتوز با استفاده از کیت Annexin-PI (Immunostep, Spain) مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور رسوب سلولی مربوط به هر گروه ۲ مرتبه با استفاده از PBS معتدل شسته شد و سپس با محلول اتصال^۱ (1X) با دانسیته یک میلیون سلول در میلی لیتر مجدداً همگن شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون هر گروه به لوله های فلوسایتومتری جداگانه منتقل شد. در ادامه ۵ میکرولیتر از رنگ های فلوئورسنت Annexin V و PI به هر لوله اضافه شد، به خوبی پیتاژ گردید و به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. پس از مدت زمان انکوباسیون، ۴۰۰ میکرولیتر محلول اتصال (1X) به هر لوله اضافه گشت. در نهایت نمونه با ۷۰۰ میکرولیتر مایع پوششی^۲ رقیق شد و در کانال FL1 دستگاه فلوسایتومتری به منظور بررسی مرگ سلولی مورد خوانش قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل داده ها

آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار GraphPad Prism 10 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) انجام شد. برای ارزیابی داده های فلوسایتومتری از نرم افزار FlowJo 7.6 (FlowJo LLC, Ashland, Oregon, USA) استفاده شد. برای تحلیل چرخه سلولی بین گروه کنترل منفی و تیمار از t-test و برای مقایسه حیات سلولی بین گروه های مختلف از One-way ANOVA با آزمون Tukey استفاده شد. همچنین برای مقایسه در زمان های ۲۴ و ۴۸ ساعت از Two-way ANOVA بهره گرفته شد. در تمامی آزمون های ذکر شده، سطح معناداری کمتر از $0/05$ ($P < 0/05$) در نظر گرفته شد و داده ها به صورت $mean \pm SD$ ارائه شدند.

یافته ها

اندازه و شکل نانوذرات سیلیکا آمینه

آنالیز پراکندگی نور دینامیکی نشان داد که میانگین قطر

¹ Binding Buffer

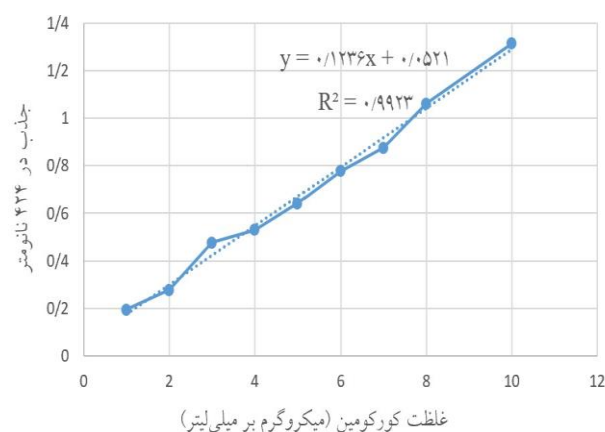
² sheath fluid

³ Polydispersity index

جدول ۱- جذب رقت‌های مختلف کورکومین در طول موج ۴۲۴ نانومتر

غلظت کورکومین ($\mu\text{g/ml}$)	OD خوانش شده در طول موج ۴۲۴ نانومتر
۱	۰/۱۹۵
۲	۰/۲۷۷
۳	۰/۴۷۸
۴	۰/۵۳
۵	۰/۶۴۳
۶	۰/۷۷۶
۷	۰/۸۷۶
۸	۱/۰۶۴
۱۰	۱/۳۱۵

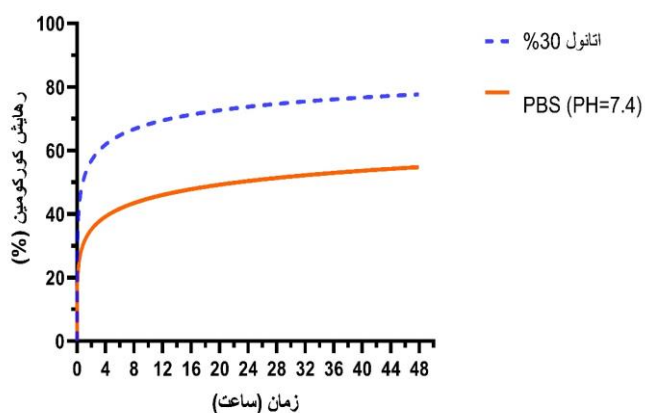
($\text{pH}=7/4$) بیشتر است و در لحظه ابتدایی مواجهه با حلال‌های PBS ($\text{pH}=7/4$) و اتانول ۳۰٪ به‌ترتیب در حدود ۲۲/۲۴۵٪ و ۴۰/۹۷۵٪ از کورکومین بارگذاری شده در نانوذرات سیلیکا آمینه آزاد شده است. بنابراین تعامل میان گروه OH کورکومین و NH_2 موجود بر سطح نانوذرات سیلیکا آمینه بر رهائش پیوسته نانوذرات تأثیر داشته است. همچنین مقایسه نتایج رهائش کورکومین در ۲۴ و ۴۸ ساعت نشان می‌دهد که با گذشت زمان، میزان رهائش کورکومین از نانوذرات سیلیکا آمینه افزایش می‌یابد؛ اما همچنان درصدی از کورکومین در درون نانوذرات باقی می‌ماند.



شکل ۲- منحنی استاندارد کورکومین در اتانول ۹۹/۸٪

درصد رهائش نانوذرات سیلیکا آمینه بارگذاری شده با کورکومین

بررسی الگوی رهائش کورکومین در ۲ محیط مختلف طی ۴۸ ساعت انجام شد. پروفایل رهائش نانوذرات سیلیکا آمینه بارگذاری شده با کورکومین در شکل ۳ نمایش داده شده است. با توجه به این که محدوده pH بدن ۷/۳۵-۷/۴۵ است و در منابع محدود (تنها در یک مطالعه) میزان رهائش کورکومین از نانوذرات سیلیکا را در اتانول ۳۰٪ بررسی کرده بود (۱۴)، از ۲ حلال متفاوت PBS ($\text{pH}=7/4$) و اتانول ۳۰٪ در دمای طبیعی بدن (۳۷ درجه سانتی‌گراد) استفاده شد (جدول ۲). نتایج نشان می‌دهد که میزان آزادسازی کورکومین از نانوذرات سیلیکا آمینه در حلال اتانول ۳۰٪ نسبت به PBS



شکل ۳- رهائش کورکومین از نانوذرات سیلیکا آمینه حامل این ماده مؤثره

جدول ۲- درصد رهایش کورکومین از نانوذرات سیلیکا آمینه حامل آن در ۲ محیط مجزا PBS (pH=۷/۴) و اتانول ۳۰٪.

زمان (ساعت)	PBS (pH=۷/۴)	اتانول ۳۰٪
۰	۲۲/۲۴۵±۷/۸۲۷۵	۴۰/۹۷۵±۵/۳۷۱۵
۱	۲۷/۰۰۵±۶/۴۴۷	۴۲/۹۷۱±۴/۶۰۶۵
۶		
۱	۲۹/۱۵۴±۷/۳۷	۴۳/۵۸۵±۰/۹۲۱۵
۲		
۱	۲۹/۱۵۴±۱۱/۰۵۳	۴۵/۴۲۷±۱/۵۳۴۵
۳	۳۱/۱۵±۸/۱۳۷	۶۲/۶۲۲±۳/۹۹۱۵
۲۴	۴۸/۹۵۸±۹/۹۷۹	۷۳/۵۲۲±۶/۶۰۱۵
۴۸	۵۹/۳۹۸±۳/۵۳۱	۷۹/۵۰۹±۱/۸۴۲۵

نتایج به صورت انحراف معیار ± میانگین گزارش شده‌اند.

حیات سلولی

MSNs-NH₂-Cur به صورت وابسته به غلظت و زمان

باعث کاهش زنده‌مانی سلول‌های RPMI-8226 شده است

($P < 0.001$), همچنین میزان IC₅₀ ۲۴ و ۴۸ ساعته به ترتیب برابر

با ۷/۹۰۱ و ۳/۵۹۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (شکل ۴).

چرخه سلولی

تیمار ۲۴ ساعته سلول‌های RPMI-8226 با MSNs-NH₂-

Cur (غلظت IC₅₀) باعث افزایش معنی‌دار جمعیت سلولی فاز

G₀/G₁ ($P < 0.01$) و کاهش معنی‌دار جمعیت سلولی فازهای S و

G₂/M ($P < 0.05$) شد (شکل ۵).

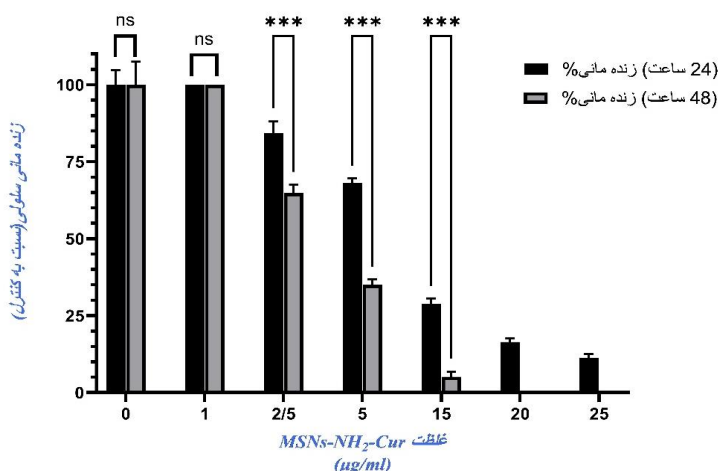
مرگ سلولی

آنالیز فلوسایتومتری نشان داد که تیمار ۲۴ ساعته سلول‌های

RPMI-8226 با MSNs-NH₂-Cur (غلظت IC₅₀) باعث

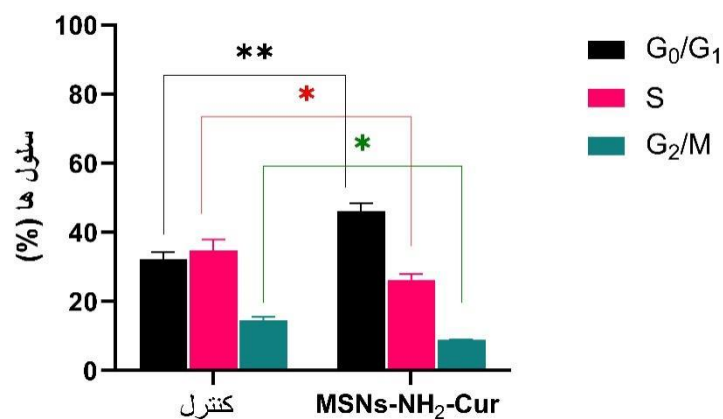
افزایش درصد سلول‌ها در فاز انتهایی آپوپتوز نسبت به کنترل منفی

شده است (شکل ۶).



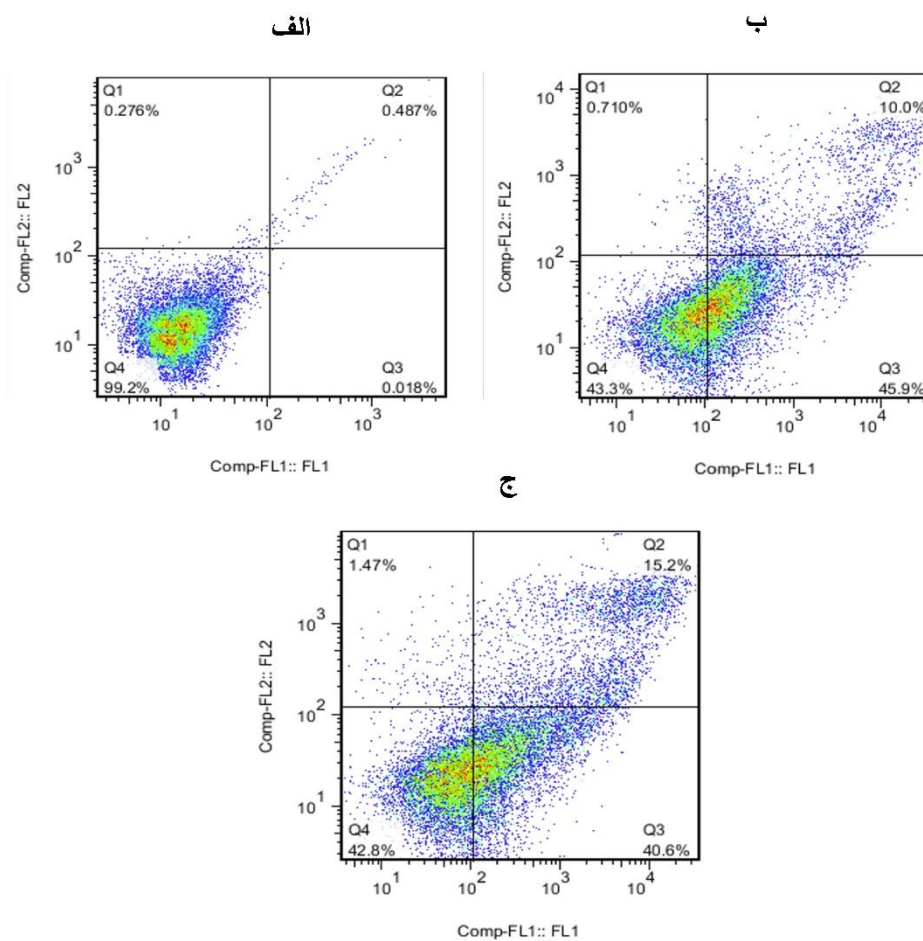
شکل ۴- اثر MSNs-NH₂-Cur بر زنده‌مانی سلول‌های RPMI-8226. سلول‌ها با غلظت‌های مختلف MSNs-NH₂-Cur در زمان‌های ۲۴ و

۴۸ ساعت تیمار شدند. نتایج به صورت Mean±SD با ۳ مرتبه تکرار گزارش شده‌اند. (ns=not significant و $P < 0.001$ ***)



شکل ۵- توزیع چرخه سلولی سلول‌های RPMI-8226 تحت تیمار با MSNs-NH₂-Cur.

نتایج به صورت Mean±SD با ۳ مرتبه تکرار گزارش شده اند. (*= $P<0.05$ و **= $P<0.01$)



شکل ۶- بررسی مرگ سلولی RPMI-8226 با استفاده از تکنیک Annexin V-PI. (الف) رنگ نشده. (ب) کنترل. (ج) MSNs-NH₂-Cur

بحث

مالتیپل میلوما نوعی بدخیمی تهاجمی و مقاوم به درمان پلاسماسل‌هاست که با ناپایداری ژنتیکی، اختلال در مسیرهای تنظیم آپوپتوز و بروز عوارض سیستمیک از جمله ضایعات استخوانی، کم‌خونی و نارسایی کلیوی همراه است. با وجود پیشرفت‌های درمانی اخیر، از جمله استفاده از مهارکننده‌های پروتئازوم، تعدیل‌کننده‌های ایمنی و آنتی‌بادی‌های مونوکلونال، مقاومت دارویی و عود مکرر همچنان از چالش‌های اصلی درمان MM محسوب می‌شود (۱۵). در مطالعه حاضر، با هدف بهبود اثربخشی درمان و کاهش سمیت دارویی، از نانوذرات سیلیکا مزو متخلخل عامل‌دار شده با آمین (MSNs-NH₂) به‌عنوان حامل کورکومین استفاده شد. بررسی اثر MSNs-NH₂-Cur بر حیات سلولی، چرخه سلولی و آپوپتوز در سلول‌های MM می‌تواند بینشی نوین برای توسعه راهبردهای درمانی هدفمند و کم‌عارضه فراهم آورد.

EE و LE % نانوذرات سیلیکا آمینه بارگذاری شده با کورکومین سنتز شده در مطالعه حاضر به‌ترتیب برابر با ۷۰٪ و ۲۷/۵٪ بود. علاوه براین مقایسه نتایج رهایش کورکومین در حلال PBS (PH=۷/۴) پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت نشان داد که با گذشت زمان، میزان رهایش کورکومین از نانوذرات سیلیکا آمینه افزایش می‌یابد؛ اما همچنان درصدی از کورکومین در درون نانوذرات باقی می‌ماند. EE و LE شاخص‌های مهمی برای ارزیابی کیفیت نانوذرات هستند (۱۶). همچنین یک سیستم دارورسانی مناسب برای دستیابی به تحویل مداوم دارو، نبایست فقط کارایی و دوز دارورسانی قابل قبول را نشان دهد بلکه بایستی بتواند دارو را به شیوه‌ای کنترل شده آزاد کند (۱۷). در این راستا، مطالعه Liu و همکاران در سال ۲۰۲۲ نشان داد که استفاده از میزان ثابت نانوذرات سیلیکا آمینه و افزایش دوز کورکومین در هنگام سنتز نانوذرات سیلیکا آمینه بارگذاری شده با کورکومین، ورود آسان‌تر دارو به داخل حفره داخلی را به دلیل ایجاد گرادین غلظتی بین داخل و خارج حامل امکان‌پذیر می‌کند و LE% افزایش می‌یابد (۴/۴۲±۰/۰۶ الی ۱۴/۱۲±۰/۰۹). اما از سوی دیگر، EE% به‌دلیل فراتر رفتن مقدار کورکومین از توانایی encapsulation نانوذرات کاهش می‌یابد (۸۸/۸۵±۰/۰۶۵ الی ۷۰/۲۹±۰/۰۲۳). همچنین آزادسازی تجمعی MSN-NH₂-

Cur در محیط خنثی (PH=۷/۴) حدود ۴۱/۱٪ بود (۱۸). همچنین مطالعه‌ی Lv و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان داد که رهایش ۲۴ ساعته کورکومین از نانوذرات MSN-Cur در محیط اتانول ۳۰٪ با استفاده از تکنیک کیسه دیالیز در حدود ۶۰٪ است (۱۴). مطالعه ما برای اولین بار اثر MSNs-NH₂-Cur را بر روی سلول‌های معلق بررسی کرد و نشان داد که MSNs-NH₂-Cur به‌طور معناداری به‌صورت وابسته به غلظت و زمان می‌تواند مانع از تکثیر و رشد سلولی در رده سلولی RPMI-8226 شود. در این راستا، مطالعه‌ی Sharifi و همکاران در سال ۲۰۲۲ سمیت سلولی اندکی بالاتر در سلول‌های چسبان HN5¹ تیمار شده با Cur-MSNs در مقایسه با کورکومین آزاد مشاهده شد. بدین صورت که اثر کورکومین در هنگام استفاده از نانوذرات حامل آن نسبت به حالت آزاد در ۲۴ و ۴۸ ساعت به ترتیب باعث کاهش ۲۲/۲۷۵٪ و ۲۵/۴۳۷۵٪ میزان IC₅₀ شد. اما این مطالعه هیچ‌گونه نتیجه‌ای در ارتباط با سمیت MSNs بر روی این رده سلولی ارائه نداد (۱۰). همچنین مطالعه Mohebian و همکاران در سال ۲۰۲۳ نیز سمیت سلولی اندکی بالاتر در سلول‌های چسبان/معلق MCF-7² تیمار شده با MSN-NH₂-Cur در مقایسه با کورکومین آزاد مشاهده شد. بدین صورت که اثر کورکومین در هنگام استفاده از نانوذرات حامل آن نسبت به حالت آزاد در ۲۴ و ۴۸ ساعت به ترتیب باعث کاهش ۱۶/۰۸۱٪ و ۲۰/۱۴۵٪ میزان IC₅₀ شد. این مطالعه همچنین نشان داد که MSN-NH₂ تا غلظت 20µg/ml هیچ سمیتی برای سلول‌های MCF-7 و MCF10A³ ندارد که بیان‌کننده طبیعت زیست سازگار⁴ این نانوذرات است (۱۹). علاوه براین، مطالعه Kong و همکاران در سال ۲۰۱۹ نشان داد که میزان IC₅₀ رده‌های سلولی چسبان A549، A375⁵، HepG2، HT-29، MCF-7 و MKN-28⁶ تیمار شده با Cur-MSNs در مقایسه با کورکومین

¹ The Head and Neck Cancer Cell Line

² A Breast Cancer Cells that was isolated from a 69-year-old, White, Female.

³ A non-tumorigenic breast epithelial cell line

⁴ Biocompatible

⁵ A cell line exhibiting epithelial morphology that was isolated from the skin of a 54-year-old, female patient with malignant melanoma

⁶ A human gastric cancer cell line derived from well-differentiated adenocarcinoma

آزاد به ترتیب ۳۰٪، ۱۷٪، ۱۸٪، ۵۴٪، ۳۲٪، ۲۷٪ و ۱۹٪ کاهش یافت. بررسی تمام مطالعات ذکر شده نشان می‌دهد که سمیت سلولی نانوذرات سیلیکا بارگذاری شده با کورکومین در رده‌های سلولی مختلف، متفاوت است. مطالعه ما با استفاده از تست Annexin V – PI افزایش آپوپتوز انتهایی در گروه‌های مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل بدون تیمار را نشان داد. مطالعه Sharifi و همکاران در سال ۲۰۲۲ نشان داد که بیان ژن *BCL-2* در حضور Cur-MSNs در مقایسه با کنترل (سلول‌های HN5 بیمار نشده) به‌طور قابل توجهی کاهش یافت. همچنین افزایش ۳/۴۳ برابری در نسبت Bax/Bcl-2 در سلول‌های HN5 بیمار شده با Cur-MSN در غلظت IC_{50} مشاهده شد. علاوه براین، Cur-MSNs تولید گونه‌های اکسیژن فعال درون سلولی (ROS^1) را نیز افزایش داد (۱۰). همچنین مطالعه‌ی Mohebian و همکاران نیز در سال ۲۰۲۳ نشان داد که کورکومین و به میزان بیشتری MSNs-NH₂-Cur باعث کاهش معنادار بیان ژن *BCL-2* و افزایش بیان ژن‌های BAX، کاسپاز ۳ و ۹ شد (۱۹). مطالعه حاضر همچنین نشان داد که MSNs-NH₂-Cur باعث افزایش معنی‌دار جمعیت سلولی فاز G_0/G_1 و کاهش معنی‌دار جمعیت سلولی فازهای S و G_2/M شد. مطالعه Bai و همکاران در سال ۲۰۰۹ (۲۰) بر روی رده سلولی RPMI-8226 نشان داد که کورکومین باعث توقف چرخه سلولی در فاز G_2/M می‌شود. همچنین مطالعه Bharti و همکاران در سال ۲۰۰۳ بر روی رده سلولی U266² نشان داد که کورکومین باعث توقف چرخه سلولی در فاز G_1/S می‌شود. بنابراین به نظر می‌رسد که کورکومین بیشتر در توقف چرخه سلولی در مراحل G_0/G_1 و G_2/M سلول‌های مالتیپل میلوما نقش دارد. تجزیه و تحلیل داده‌های بیان ژن نشان می‌دهد که تقریباً همه موارد نئوپلاسم پلاسماسل که از مرحله MGUS شروع می‌شوند، یک یا چند ژن سیکلین D را به‌طور نابجا بیان می‌کنند. بنابراین، پیشنهاد شده است که اختلال در تنظیم یک ژن سیکلین D یک رویداد انکوژنیک اولیه در MGUS و MM است و نقش مهمی در

پاتوژنز و پیشرفت MM دارد. به نظر می‌رسد MGUS و MM به پلاسماسل‌های طبیعی و غیرتکثیرشونده نسبت به پلاسمابلاست‌های در حال تکثیر طبیعی نزدیک‌تر از هستند که بنابراین $\leq 30\%$ از سلول‌ها می‌توانند در فاز S باشند. دیده شده که سطح بیان mRNA سیکلین D1، سیکلین D2 یا سیکلین D3 در MM و MGUS به‌طور مشخص بالاتر از پلاسماسل‌های طبیعی و در سطحی قابل مقایسه با mRNA سیکلین D2 بیان شده در پلاسمابلاست‌های در حال تکثیر طبیعی است (۱۵). در همین راستا مطالعات متعددی در سطح In-vitro و In-vivo نشان دادند که کورکومین باعث کاهش بیان سیکلین D1 می‌شود (۲۱، ۲۲). اما مطالعه‌ای مبنی بر بررسی اثر نانوذرات سیلیکا آمینه بارگذاری شده با کورکومین بر چرخه سلولی وجود ندارد. لذا تحقیقات بیشتر در راستای تأیید نتایج چرخه سلولی بر روی این رده سلولی، اثر نانوذرات سیلیکا آمینه بارگذاری شده با کورکومین بر دیگر رده‌های سلولی و به‌کارگیری آن در مطالعات In-vivo جهت دستیابی به درک بهتر اثرات بالقوه سیستمیک و کارایی درمانی می‌تواند کمک کننده باشد.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که MSNs-NH₂-Cur می‌تواند به‌طور قابل توجهی زنده‌مانی سلولی را به صورت وابسته به غلظت و زمان کاهش دهد، آپوپتوز را القا کند و باعث توقف چرخه سلولی سلول‌های RPMI-8226 در فاز G_0/G_1 و کاهش جمعیت سلولی در فاز S شود. در مجموع، این مطالعه بر اهمیت بررسی بیشتر نانوذرات سیلیکا آمینه بارگذاری شده با کورکومین به عنوان یک مکمل در درمان MM و بررسی پتانسیل درمانی این عصاره به صورت نانو به عنوان یک داروی ضد MM آینده‌نگر را ایجاب می‌کند. تحقیقات بیشتر در این زمینه می‌تواند به درک بهتر مکانیزم‌های مولکولی و بهره‌برداری از این ترکیبات مفید در بالین کمک‌کننده باشد. علاوه براین، مطالعات آینده بایستی به پتانسیل ضدسرطانی MSNs-NH₂-Cur در مدل‌های تجربی in vivo بپردازد.

¹ Reactive Oxygen Species

² A B lymphocyte isolated from the peripheral blood of a 53-year-old, male patient with myeloma

تقدیر و تشکر

شده است.

این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد تحت عنوان "بررسی اثر نانوذرات سیلیکا بارگذاری شده با کورکومین در القای مرگ سلولی در رده سلولی RPMI-8226 (مالتیپل میلوما) با شماره ثبت پایان نامه ۴۵۷۳۶۸ می باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی بیرجند اجرا شده است.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه پس از اخذ مجوز اخلاق با شناسه IR.BUMS.REC.1402.553 انجام شد.

مشارکت نویسندگان

مازیار نصیری: انجام تست های آزمایشگاهی، آنالیز برخی داده ها و نگارش مقاله. غلامرضا عنانی سراب: مشارکت در طراحی پژوهش، بررسی و ویرایش مقاله. مهتاب صیادی: آنالیز برخی داده ها و ویرایش مقاله. مهدی شکیبائی: مشارکت در طراحی پژوهش، آنالیز برخی داده ها، نگارش پیش نویس اولیه، نظارت و رهبری مقاله. همه نویسندگان نسخه نهایی را خوانده و تایید کردند.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

حمایت مالی

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند اجرا

منابع

1. Dadzie TG, Green AC. The role of the bone microenvironment in regulating myeloma residual disease and treatment. *Front Oncol*. 2022; 12:999939. DOI: [10.3389/fonc.2022.999939](https://doi.org/10.3389/fonc.2022.999939)
2. Siegel RL, Kratzer TB, Giaquinto AN, Sung H, Jemal A. Cancer statistics, 2025. *CA Cancer J Clin*. 2025; 75(1): 10-45. DOI: [10.3322/caac.21871](https://doi.org/10.3322/caac.21871)
3. Nahvijou A. Disability-Adjusted Life Years (DALY) for Cancers in Iran, 1990 to 2016: Review of Findings from the Global Burden of Disease Study. *Iran J Public Health*. 2021; 50(10):2095-104. DOI: [10.18502/ijph.v50i10.7511](https://doi.org/10.18502/ijph.v50i10.7511)
4. Michels TC, Petersen KE. Multiple Myeloma: Diagnosis and Treatment. *Am Fam Physician*. 2017; 95(6): 373-83. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28318212/>
5. Egwu CO, Alope C, Onwe KT, Umoke CI, Nwafor J, Eyo RA, et al. Nanomaterials in Drug Delivery: Strengths and Opportunities in Medicine. *Molecules*. 2024; 29(11): 2584. DOI: [10.3390/molecules29112584](https://doi.org/10.3390/molecules29112584)
6. Alvarez-Berrios MP, Sosa-Cintron N, Rodriguez-Lugo M, Juneja R, Vivero-Escoto JL. Hybrid Nanomaterials Based on Iron Oxide Nanoparticles and Mesoporous Silica Nanoparticles: Overcoming Challenges in Current Cancer Treatments. *J Chem*. 2016; 2016: 2672740. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/2672740>
7. Hesari A, Azizian M, Sheikhi A, Nesaei A, Sanaei S, Mahinparvar N, et al. Chemopreventive and therapeutic potential of curcumin in esophageal cancer: Current and future status. *Int J Cancer*. 2019; 144(6): 1215-26. DOI: [10.1002/ijc.31947](https://doi.org/10.1002/ijc.31947)
8. Ghasemi F, Shafiee M, Banikazemi Z, Pourhanifeh MH, Khanbabaei H, Shamshirian A, et al. Curcumin inhibits NF-κB and Wnt/β-catenin pathways in cervical cancer cells. *Pathol Res Pract*. 2019; 215(10): 152556. DOI: [10.1016/j.prp.2019.152556](https://doi.org/10.1016/j.prp.2019.152556)
9. Allegra A, Speciale A, Molonia MS, Guglielmo L, Musolino C, Ferlazzo G, et al. Curcumin ameliorates the in vitro efficacy of carfilzomib in human multiple myeloma U266 cells targeting p53 and NF-κB pathways. *Toxicol In Vitro*. 2018; 47: 186-94. DOI: [10.1016/j.tiv.2017.12.001](https://doi.org/10.1016/j.tiv.2017.12.001)

10. Sharifi S, Dalir Abdolahinia E, Ghavimi MA, Dizaj SM, Aschner M, Saso L, et al. Effect of Curcumin-Loaded Mesoporous Silica Nanoparticles on the Head and Neck Cancer Cell Line, HN5. *Curr Issues Mol Biol*. 2022; 44(11): 5247-59. DOI: [10.3390/cimb44110357](https://doi.org/10.3390/cimb44110357)
11. Mirzaei H, Bagheri H, Ghasemi F, Khoi JM, Pourhanifeh MH, Heyden YV, et al. Anti-Cancer Activity of Curcumin on Multiple Myeloma. *Anticancer Agents Med Chem*. 2021; 21(5): 575-86. DOI: [10.2174/1871520620666200918113625](https://doi.org/10.2174/1871520620666200918113625)
12. Pedraza D, Díez J, Isabel-Izquierdo-Barba, Colilla M, Vallet-Regí M. Amine-Functionalized Mesoporous Silica Nanoparticles: A New Nanoantibiotic for Bone Infection Treatment. *Biomedical Glasses*. 2018; 4(1): 1-12. DOI: [10.1515/bglass-2018-0001](https://doi.org/10.1515/bglass-2018-0001)
13. Riccardi C, Nicoletti I. Analysis of apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry. *Nat Protoc*. 2006; 1(3): 1458-61. DOI: [10.1038/nprot.2006.238](https://doi.org/10.1038/nprot.2006.238)
14. Lv Y, Li J, Chen H, Bai Y, Zhang L. Glycyrrhetic acid-functionalized mesoporous silica nanoparticles as hepatocellular carcinoma-targeted drug carrier. *Int J Nanomedicine*. 2017; 12: 4361-70. DOI: [10.2147/IJN.S135626](https://doi.org/10.2147/IJN.S135626)
15. Chng WJ, Bergsagel PL. The molecular biology of multiple myeloma. *Molecular Hematology*. London: Wiley-Blackwell; 2019. p. 121-30. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781119252863.ch10>
16. Yang G, Liu Y, Wang H, Wilson R, Hui Y, Yu L, et al. Bioinspired Core-Shell Nanoparticles for Hydrophobic Drug Delivery. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2019; 58(40): 14357-64. DOI: [10.1002/anie.201908357](https://doi.org/10.1002/anie.201908357)
17. Hu T, Yang J, Cui K, Rao Q, Yin T, Tan L, et al. Controlled Slow-Release Drug-Eluting Stents for the Prevention of Coronary Restenosis: Recent Progress and Future Prospects. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2015; 7(22): 11695-712. DOI: [10.1021/acsami.5b01993](https://doi.org/10.1021/acsami.5b01993)
18. Liu C, Jiang F, Xing Z, Fan L, Li Y, Wang S, et al. Efficient Delivery of Curcumin by Alginate Oligosaccharide Coated Aminated Mesoporous Silica Nanoparticles and In Vitro Anticancer Activity against Colon Cancer Cells. *Pharmaceutics*. 2022; 14(6): 1166. DOI: [10.3390/pharmaceutics14061166](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061166)
19. Mohebian Z, Babazadeh M, Zarghami N. In Vitro Efficacy of Curcumin-Loaded Amine-Functionalized Mesoporous Silica Nanoparticles against MCF-7 Breast Cancer Cells. *Adv Pharm Bull*. 2023; 13(2): 317-27. DOI: [10.34172/apb.2023.035](https://doi.org/10.34172/apb.2023.035)
20. Bai Q, Liu Q. Antitumor Effects and Mechanisms of Curcumin On Human Multiple Myeloma Cell Lines. *Blood*. 2009; 114(22): 4896. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood.V114.22.4896.4896>
21. Sung B, Kunnumakkara AB, Sethi G, Anand P, Guha S, Aggarwal BB. Curcumin circumvents chemoresistance in vitro and potentiates the effect of thalidomide and bortezomib against human multiple myeloma in nude mice model. *Mol Cancer Ther*. 2009; 8(4): 959-70. DOI: [10.1158/1535-7163.MCT-08-0905](https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-08-0905)
22. Zhang XY, Bai QX, Huang GS, Zhao H, Chen JJ, Yang LJ. [Effect of curcumin in combination with bortezomib on proliferation and apoptosis of human multiple myeloma cell line H929 and its mechanism]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 2011; 19(3): 684-8. [Article in Chinese] URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21729550/>