Pejouhesh dar Pezeshki (i.e., Research in Medicine) **Original Article**

The Quarterly Journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences 2024; Vol. 48; No. 2

Investigating the Effect of Zein- Betacyclodextrin Nanoparticles Loaded with Naringin on MCF7 Breast Cancer Cell Line

Zahra Fazeli, Ali Neamati*, Ehsan Karimi

Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.

Received: September 02, 2023; Accepted: May 26, 2024

Abstract

Background and Aim: Despite recent advances in diagnosis and treatment, breast cancer is still the first cause of death for women worldwide. Today, zein is used as a widely used component in drug delivery systems due to its excellent hydrophobicity, biodegradability, biological adhesion and economic characteristics. This study was conducted with the aim of investigating the effect of zein- beta- cyclodextrin nanoparticles loaded with naringin on the expression of *Cas9* and *Bcl2* genes in MCF7 cell line.

Methods: In this experimental study, the size, surface morphology, and chemical structure of the synthesized β-CD-zein nanoparticles were determined by dynamic light scattering (DLS), scanning electron microscopy, and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), respectively. MCF7 cells were treated with different concentrations of zein-beta- cyclodextrin nanoparticles loaded with naringin (15.6, 31.2, 62.5, 125, 250 and 500 µg/ ml) for 24 hours and then the toxicity effect was evaluated using the MTT test. DAPI staining was performed to investigate the induction of apoptosis, and a flow cytometry assay was performed to evaluate the effects of β-CD- zein on cell viability, migration, and expression of genes related to migration and apoptosis. Finally, the expression of *the Cas9 and Bcl2 genes compared to the GAPDH gene was checked by the real-time* method. The results of these surveys were analyzed with SPSS software and Tukey's post hoc test.

Results: The results showed that the nanoparticle was synthesized with a size of 144 nm, zeta potential of -16.2 mV, uniform shape and expected structure. The dispersion index of PDI was calculated as 0.17. Also, with increasing the concentration of nanoparticles loaded with naringin, the survival rate of cells decreased significantly compared to the control. Moreover, Real-time PCR showed that the expression of *Cas9* and *Bcl2* gene in 24 hours under the influence of different concentrations of zein- beta- cyclodextrin nanoparticles loaded with naringin (IC50 with a concentration of 62.5 µg/ ml) significantly increased and decreased, respectively ($P < 0.01$.) compared to the control group.

Conclusion: Based on the findings of this research, the combination of zein- beta cyclodextrin loaded with naringin is effective against breast cancer cells and can be studied as a suitable candidate for breast cancer treatment.

Keywords: Naringin; breast cancer; *Cas9* gene; *Bcl2* gene; *MCF7* cell line; Beta- cyclodextrin; Zein

Please cite this article as: Fazeli Z, Neamati A, Karimi E. Investigating the Effect of Zein- Betacyclodextrin Nanoparticles Loaded with Naringin on MCF7 Breast Cancer Cell Line. Pejouhesh dar Pezeshki. 2024;48(2):12-26.

*Corresponding Author: Ali Neamati; **Email:** neamati.ali@gmail.com

Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]

پژوهش در پزشکی
مقاله پژوهشی
فصلنامه علمی-پژوهشی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی شهید بهشتی
دوره ۴۸، شماره ۲، سال ۱۴۰۳ شمسی، صفحات ۱۲ تا ۲۶

بررسی اثر نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری‌شده با نارینجین روی رده سلولی MCF7 سرطان پستان

زهرا فاضلی، علی نعمتی*، احسان کریمی

گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۰۶

چکیده

سابقه و هدف: باوجود پیشرفت‌های اخیر در تشخیص و درمان، سرطان پستان هنوز اولین دلیل مرگ زنان در کل جهان است. امروزه زئین به دلیل آب‌گریزی عالی، زیست تخریب پذیری، چسبندگی بیولوژیکی و ویژگی‌های اقتصادی، به عنوان یک جزء پرکاربرد در سیستم‌های دارورسانی استفاده می‌شود. این مطالعه با هدف بررسی تأثیر نانوذرات زئین- بتا سیکلودکسترین بارگذاری‌شده با نارینجین بر بیان ژن‌های *Cas9* و *Bcl2* روی رده سلولی MCF۷ انجام شده است.

روش کار: در این مطالعه تجربی، اندازه نانوذرات زئین- بتا سیکلودکسترین سنتز شده، مورفولوژی سطح و ساختار شیمیایی به ترتیب با پراکندگی نور دینامیکی (DLS)، میکروسکوپ الکترونی روبشی و طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه (FT-IR) تعیین شد. سلولی MCF7 با غلظت‌های مختلف نانوذرات زئین-بتاسیکلودکسترین بارگذاری‌شده با نارینجین ۱۵/۶، ۳۱/۲، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به مدت ۲۴ساعت تیمار و سپس اثر سمیت با استفاده از تست MTT ارزیابی شد. رنگ‌آمیزی DAPI برای بررسی القای آپوپتوزیس و سنجش فلوسیتومتری برای ارزیابی آثار نانوذره بر زنده‌مانی سلولی و بیان ژن *Cas9* و *Bcl2* در مقایسه با ژن GAPDH با روش Real time- PCR انجام شد. نتایج حاصل از این بررسی‌ها با نرم‌افزار SPSS و آزمون تعقیبی Tukey آنالیز شد.

یافته‌ها: یافته‌های این تحقیق نشان داد که نانوذره در اندازه ۱۴۴ نانومتر با پتانسیل زتای ۱۶/۲- mV، یکنواختی شکل و ساختار مورد انتظار سنتز شده است. میزان شاخص پراکندگی PDI معادل ۰/۱۷ محاسبه شد. همچنین با افزایش غلظت نانوذرات بارگذاری شده با نارینجین، میزان بقای سلول‌ها به طور معناداری نسبت به شاهد کاهش یافت، به طوری که در Real time-PCR بیان ژن *Cas9* و *Bcl2* در زمان ۲۴ ساعت تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات زئین-بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین (IC50 با غلظت ۶۲.۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) نسبت به گروه شاهد به ترتیب افزایش و کاهش معناداری را نشان داد ($P < ۰/۰۱$).

نتیجه‌گیری: براساس یافته‌های این تحقیق ترکیب زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین علیه سلول‌های سرطان پستان موثر بوده و می‌تواند به عنوان کاندیدای مناسبی برای درمان سرطان پستان مورد مطالعه تکمیلی قرار گیرد.

واژگان کلیدی: نارینجین؛ سرطان‌پستان؛ ژن *Cas9*؛ ژن *Bcl2*، رده سلولی MCF7؛ بتاسیکلودکسترین؛ زئین

به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Fazeli Z, Neamati A, Karimi E. Investigating the Effect of Zein- Betacyclodextrin Nanoparticles Loaded with Naringin on MCF7 Breast Cancer Cell Line. Pejouhesh dar Pezeshki. 2024;48(2):12-26.

***نویسنده مسئول مکاتبات:** علی نعمتی؛ **آدرس پست الکترونیکی:** neamati.ali@gmail.com

گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]

مقدمه

امروزه سرطان پستان عامل اصلی مرگ و میر ناشی از سرطان در زنان در سراسر جهان است. اگر اقدام‌های فوری انجام نشود، تعداد زنان مبتلا به سرطان پستان در سراسر جهان تقریباً دو برابر خواهد شد و تا سال ۲۰۳۰ به ۳/۲ میلیون نفر در سال خواهد رسید (۱). باوجود در دسترس بودن چندین روش درمانی مدرن برای سرطان پستان، همه آنها به دلیل آثار نامطلوب مرتبط محدود شده‌اند. در سطح پیشرفته سرطان، درمان کمتر مؤثر است و به شیمی‌درمانی مقاوم بیشتری دیده می‌شود (۲). بسیاری از درمان‌های مرسوم سرطان با درگیر کردن غیرمستقیم کاسپازها، آپوپتوز را برای حذف سلول سرطانی القا می‌کنند. اعضای خانواده پروتئازهای کاسپاز نقش اساسی در شروع و اجرای آپوپتوز دارند. کاسپازها به دو گروه تقسیم می‌شوند: کاسپازهای آغازگر (کاسپاز۲، ۸، ۹ و۱۰) که اولین کاسپازهایی هستند که در پاسخ به یک سیگنال فعال می‌شوند و کاسپازهای (کاسپاز۳، ۶ و ۷) که مرحله تخریب آپوپتوز را انجام می‌دهند. امروزه روش‌های درمانی جدیدتری طراحی شده‌اند، ازجمله آنهایی که به طور خاص کاسپازهای فردی را با استفاده از رویکردهای ژن‌درمانی فعال می‌کنند و یا مولکول‌های کوچکی که مهارکننده‌های طبیعی کاسپازهای موجود در سلول را سرکوب می‌کنند. بررسی‌ها، نقش کاسپازها را به عنوان محافظ در برابر سرطان در زمینه مزایا و محدودیت‌های بالقوه هدف قرار دادن کاسپازهای آپوپتوز برای درمان سرطان ثابت کرده است.

سیکلودکسترین‌ها دارای ساختارهای فنجان مانند با بیرونی آب‌دوست و درونی آب‌گریز هستند. تعداد مونومرهای قند نام و ابعاد حفره حلقوی را مشخص می‌کند: α-CD، β-CD و γ-CD که به ترتیب دارای شش، هفت و هشت باقی مانده گلوکز هستند. این امر سیکلودکسترین‌ها را از نظر اندازه، ظرفیت حمل دارو و سرنوشت بیولوژیکی آن متمایز می‌کند (۳).

زئین نیز یک پروتئین ذرت متعلق به کلاس پرولامین است و عمدتاً از اسیدهای آمینه غیرقطبی تشکیل شده است که امکان حل شدن فوری آن را در مخلوط‌های هیدروالکلی فراهم می‌کند (۴). زئین نانوذرات (NP) مثبت را با روش جابه‌جایی حلال استاندارد تشکیل می‌دهد و داروهای لیپوفیل را با راندمان بالا به دام می اندازد و سبب پراکندگی آنها در آب و کنترل سرعت رهاسازی می‌شود (۵). به دلیل آب‌گریزی عالی، زیست تخریب‌پذیری، چسبندگی بیولوژیکی و ویژگی‌های اقتصادی، زئین به عنوان یک جزء کاربردی در سیستم‌های تحویل استفاده شده است (۶). ترکیب زئین با پلیمرهای مختلف ممکن است یک استراتژی معتبر برای بزرگ‌تر کردن فضای دست‌کاری برای پلتفرم‌های تحویل مبتنی بر زئین و توسعه سیستم‌های تحویل خوراکی جدید باشد (۷, ۸). استفاده ترکیبی از زئین و سیکلودکسترین‌ها به عنوان ساختارهای تحویل برای ترکیب‌های ضعیف محلول در آب تاکنون به‌ندرت بررسی شده است (۹).

اخیراً، تعداد فزاینده‌ای از مطالعه‌ها برای شناسایی عوامل درمانی جدید از محصولات طبیعی انجام شده است، که در میان آنها ترکیب‌های زیست فعال مشتق شده از گیاه به طور فزاینده‌ای مطالعه شده‌اند. نارینجین (NG) به وفور در مرکبات مانند گریپ فروت و پرتقال وجود دارد. بر اساس مطالعه‌ها فعالیت‌های ضد سرطان‌زایی آنها از طریق چندین مسیر انتقال سیگنال سلولی انجام می‌شود و نارینجین از طریق مکانیسم‌های مختلف، ازجمله سرکوب رشد سلول‌های بدخیم، القای آپوپتوز و توقف چرخه سلولی و تعدیل استرس اکسیداتیو، التهاب و رگ‌زایی، از طریق تنظیم چندین آبشار سیگنالینگ سلولی، سرطان‌های مختلف را مهار می‌کند (۱۰).

هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر نانوذرات زئین- بتا سیکلودکسترین بارگذاری‌شده با نارینجین بر بیان ژن‌های *Cas9* و *Bcl2* در روی رده سلولی MCF-۷ است.

روش کار

این مطالعه تجربی در آزمایشگاه تحقیقاتی گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد در سال ۱۴۰۲ انجام شده است.

تهیه نانومولسیون زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین

برای ساخت نانوذرات با استفاده از روش liquid- liquid dispersion و دستگاه ماوراصوت، ۲۰۰

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]

میلی‌گرم زئین در محیط کشت RPMI-1640 (Invitrogen, Carlsbad, California, USA) به عنوان حلال برای جلوگیری از آلودگی سلول‌ها حل شد و پس از سونیکاسیون به مدت دو ساعت در دمای $50^{\circ C}$ برای انحلال کامل بر روی استیرر قرار داده شد. سپس ۵۰۰ میلی‌گرم بتاسیکلودکسترین به مدت یک ساعت روی استیرر در دمای اتاق قرار داده شد تا به طور کامل حل شود. در مرحله بعد ۲۰ میلی‌گرم نارینجین به بتاسیکلودکسترین اضافه و سونیکاسیون انجام شد. در نهایت زئین سرد شده در دمای اتاق قطره قطره به آن اضافه شد. این محلول به مدت یک ساعت هموژنیزه و در دستگاه روتاری خشک شد تا به صورت پودر درآید. سپس اندازه نانوذرات با دستگاه پارتیکل سایز سنجیده شد. در نهایت شکل و مورفولوژی نانوذرات توسط میکروسکوپ الکترونی بررسی شد.

بررسی خصوصیات نانوذرات

اندازه نانوذرات، شاخص پراکندگی (PDI)، پتانسیل زتا، مورفولوژی سطح و گروه‌های عاملی βC-NP مشخص شدند. اندازه ذرات، PDI و پتانسیل زتای βC-NPs با پراکندگی نور دینامیکی، با استفاده از دستگاه (Zetasizer Nano ZS90 UK) تعیین شد. مورفولوژی سطح βC-NPs توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FE-SEM) (هیتاچی، زوریخ، سوئیس) مطالعه شد.

تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی SEM

برای بررسی خصوصیات موفولوژیکی نانوذرات از تصویربرداری روبشی استفاده شد. میکروسکوپ **SEM**، امکان بررسی سطح و ریزساختار را در ابعاد میکرونی و نانومتری فراهم می‌آورد.

مطالعه‌های کشت سلولی در شرایط آزمایشگاهی

بررسی سمیت سلولی

سلول‌های رده سلولی سرطان پستان (MCF-7) مطالعه شده در محیط RPMI1640 حاوی ۱۰ تا ۲۰ درصد سرم جنین گاوی (Gibco BRL,USA) رشد داده شدند (۱۱). سلول‌ها در پلیت ۹۶ خانه‌ای کشت داده شدند، در اولین مرحله سلول‌ها با کمک تریپسین از فلاسک جدا شدند (مراحل مشابه پاساژ سلولی است). پس از سوسپانسیون کردن سلول‌ها در محیط کشت، از این سوسپانسیون سلولی ۱۰ میکرولیتر برداشته و به آن ۱۰ میکرولیتر تریپان بلو اضافه شد، سپس به کمک لام نئوبار سلول‌ها شمارش شدند. مقدار مناسب نانوذرات نارینجین در ۵٪ DMSO و محیط کشت و آب دیونیزه و نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین با میزان بارگذاری ۱٪ در آب دیونیزه و محیط کشت یکنواخت شد.

در مرحله بعد میزان ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت حاوی تعداد 10^4 سلول در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه کشت شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، غلظت‌های ۰/۱، ۱، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از نانوذرات زئین بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین حاوی نارینجین به همراه نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین (به طور جداگانه) به سلول‌ها اضافه شده و طی ۴۸ ساعت انکوبه شد. پس از طی زمان مذکور به هر چاهک پلیت ۲۰ میکرولیتر (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) MTT (با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) اضافه شده و به مدت چهار ساعت دیگر در تاریکی انکوبه شد. سپس محیط کشت حاوی MTT به دقت خارج شد و به هر چاهک پلیت میزان ۵۰ میکرولیتر محلول DMSO رقیق شده جهت حل کردن فورمازان ارغوانی رنگ اضافه شد. در نهایت پس از ۱۵دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق جذب نوری هر چاهک با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Bio-Tek,USA) در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد و با استفاده از رابطه % viability =100- % cytotoxicity درصد زیستایی سلول‌ها محاسبه شد (۱۱).

بررسی بیان ژن‌های *Cas9* و *Bcl2* با Real- time PCR

رده سلولی MCF-7 با نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین حاوی نارینجین به مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند. در مرحله بعد RNA از سلول‌های تیمار شده و تیمار نشده استخراج شد و پس از ساخت مولکول‌های DNA مکمل cDNA با کیت Revert AidTM First Strand cDNA Synthesis Kit میزان بیان

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]

ژن‌های *Bcl2* و *Cas9* در گروه‌های تیمار شده با نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین حاوی نارینجین و تیمار نشده در مقایسه با ژن GAPDH مقایسه شد. برنامه زمانی- گرمایی دستگاه ریل تایم (Bio-Rad, USA) در دو مرحله انجام شد. PCR طبق برنامه زمانی دمایی در مرحله‌ی اول، ۹۵°C به مدت پنج دقیقه، مرحله دوّم ۹۵°C به مدت پنج ثانیه و برای ۴۵ چرخه متوالیو مرحله نهایی ۶۰°C تا ۹۵°C انجام شد. واکنش‌های Real-time PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر به صورت تکرار سه‌تایی انجام شدند. ترکیب‌های هر واکنش شامل ۱۰ میکرولیتر از کیت Real-time PCR، یک میکرولیتر (۴۰۰ نانومولار) از پرایمرهای جلویی و برگشتی اختصاصی هر ژن، ۵ میکرولیترcDNA (۳۰۰ نانوگرم) و مابقی آب مقطر دو بار تقطیر اضافه شد تا به حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر رسید. نتایج حاصل از این مرحله با نرم‌افزار SPSS آنالیز شد.

بررسی روند القای آپوپتوز با روش فلوسیتومتری

از تست MTT به عنوان آزمون کمی برای اندازه‌گیری میزان تکثیر سلول‌ها در مواجه با نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین حاوی نارینجین و تعیین میزان سمیت این عوامل روی سلول‌ها استفاده شد. میزان ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت حاوی تعداد 10^4 سلول در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه کشت شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، غلظت‌های ۱۵/۶، ۳۱/۲، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از نانوذرات حاوی نارینجین به همراه نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین (به طور جداگانه) به سلول‌ها اضافه شده و طی ۲۴ ساعت انکوبه شد. برای تهیه محلول MTT با غلظت ۵ mg/ml، ۵۰mg از پودرMTT در ۱۰ml از PBS، حل شد و هنگام استفاده در رنگ‌آمیزی ۱۰ برابر با PBS رقیق شد تا محلول MTT۰/۵ mg/ml به دست آید. پس از طی زمان مذکور به هر چاهک پلیت ۲۰ میکرولیتر MTT (با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) اضافه شده و به مدت سه ساعت دیگر در تاریکی انکوبه شد. پس از طی زمان لازم محیط کشت حاوی MTT به دقت خارج می‌شود و به هر خانه پلیت میزان ۱۰۰ میکرولیتر محلول DMSO رقیق شده برای حل کردن فورمازان ارغوانی رنگ اضافه شد. پس از ۱۵دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق جذب نوری هر چاهک با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد.

در روز سوم نیز مطابق به مراحل انجام شده در روز دوم به هر خانه ۲۰ میکرولیتر از محلول تهیه شده اضافه شد. ظرف کشت به مدت سه ساعت در انکوباتور قرار داده شد. ظرف کشت، سپس از انکوباتور خارج شد و محیط سلول‌ها تخلیه شد و سپس برای حل کردن فورمازان تولید شده به هر خانه ۱۰۰ میکرولیتر دی متیل سولفوکساید اضافه و ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگه داشته شد، تا فورمازان به خوبی حل شود. در مرحله بعد جذب به کمک دستگاه اسپکتروفوتومتر و در طول موج ۵۷۰ nm نانومتر اندازه‌گیری شد. در نهایت جذب نوری پلیت مربوط به تیمار ۲۴ ساعت خوانده شد. درصد بقای سلول‌های بررسی شده که تیمار شده‌اند، با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$\% \text{ viability} = 100 - \% \text{ cytotoxicity}$$

برای انجام فلوسایتومتری (Olympus, Japan) سلول‌ها با غلظت‌های انتخابی ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر از عصاره تیمار و به مدت۲۴ ساعت تحت انکوباسیون قرار گرفتند. تغییرهای مورفولوژیک ناشی از آپوپتوز در هسته سلول‌ها توسط میکروسکوپ فلورسنت مشاهده شد. بعد از طی این زمان، سلول‌ها با پارا فرم‌آلدئید ۴ درصد به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق ثابت شدند و در نهایت سلول‌ها به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق تحت اثر رنگ DAPI قرار داده شدند برای مشاهده هسته سلول‌ها، بررسی آپوپتوز، بررسی میزان تراکم و یا قطعه قطعه شدن کروماتین در سلول‌های تیمار شده و مقایسه آن با گروه کنترل از روش رنگ آمیزی DAPI استفاده شد (۱۲).

آنالیز آماری

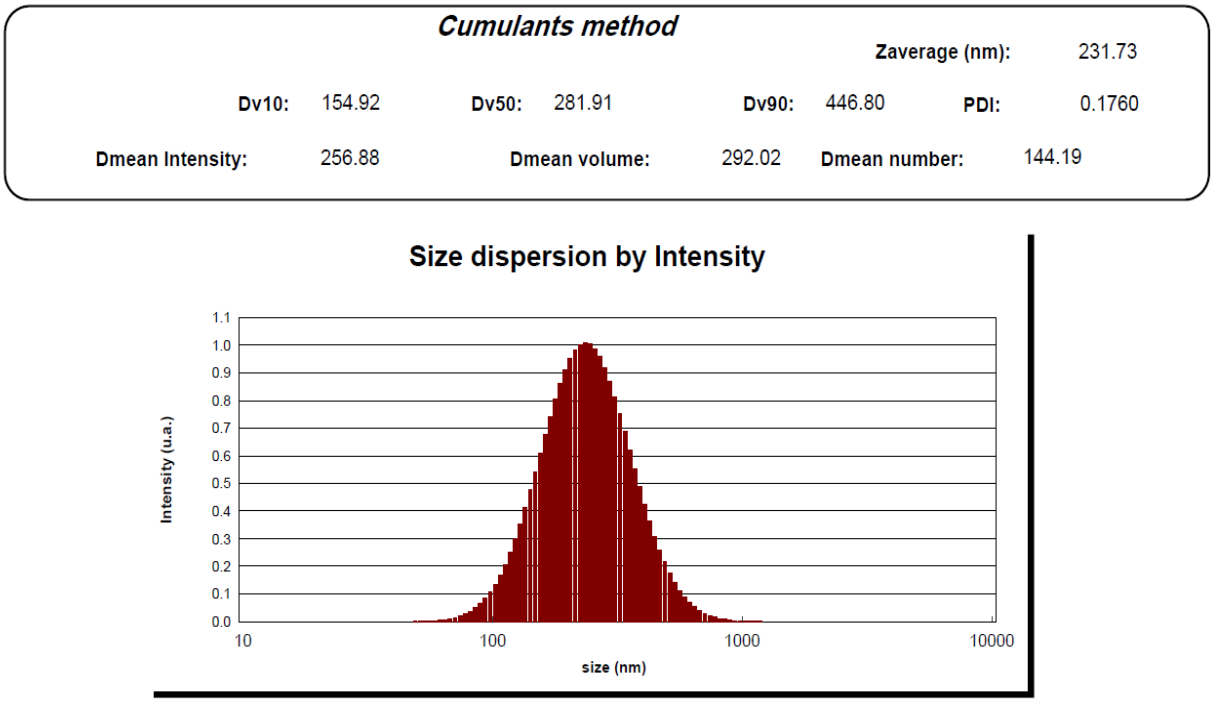
برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS و آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (one way ANOVA) آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد و سطح معناداری برای آنالیزهای آماری میزان $P < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]

یافته‌ها

تعیین اندازه نانوذرات و پتانسیل زتا پراکندگی نوری (DLS)

نتایج حاصل از DLS (NVIDIA Docs, USA) معمولاً با سه شاخص شدت، حجم و تعداد گزارش می‌شود. در این پژوهش نتایج ما بر اساس شاخص شدت گزارش می‌شوند. نتایج به دست آمده نشان می‌دهند که توزیع نانوذرات به صورت باریک و تک قله است و نمونه از یکنواختی مطلوبی برخوردار است. همان‌طور که در (شکل ۱) نشان داده شده است اندازه (قطر) قطره‌های نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین حدود ۱۴۴ nm و میزان شاخص پراکندگی PDI حدود ۰/۱۷ است.

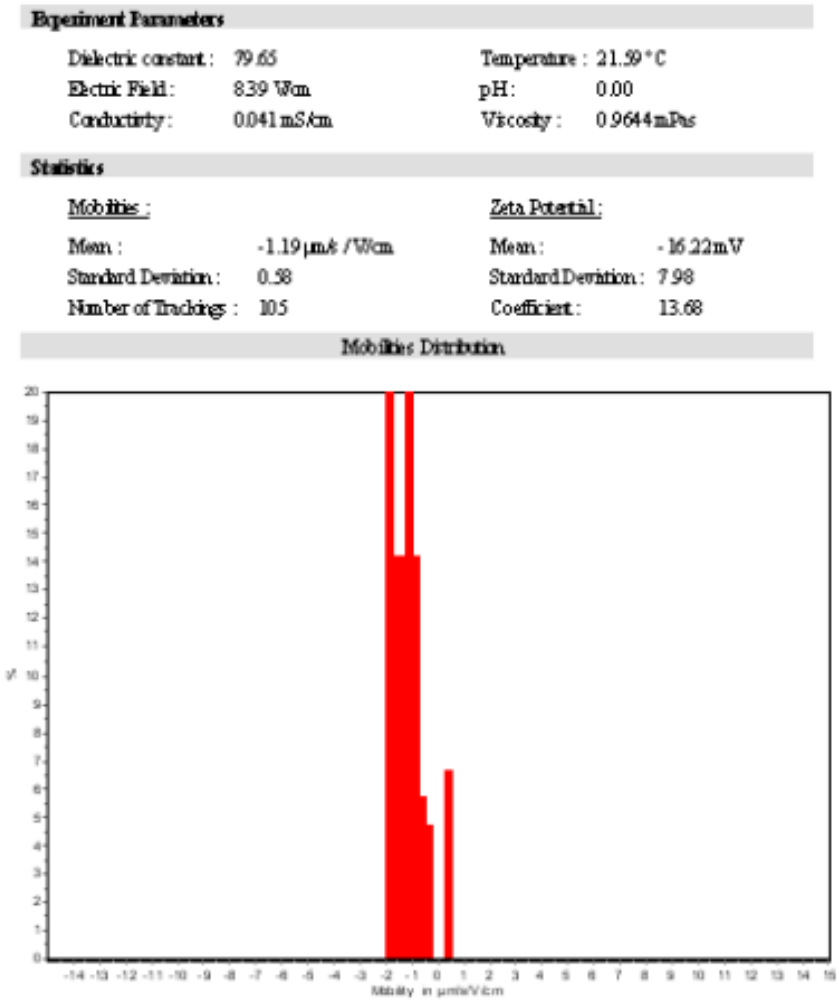


شکل ۱- نمودار توزیع نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین

نتایج حاصل از پتانسیل زتا

باتوجه به اینکه اساس اندازه‌گیری پتانسیل زتا کنترل سوسپانسیونی فلوئیدی بار ذرات تشکیل‌دهنده است، نشان‌دهنده پایداری نانوذره است. هرچه نانوذره به منفی ۳۰ میلی‌ولت نزدیک‌تر باشد، پایدارتر است. بر اساس نتایج حاصل از دستگاه پتانسیل زتا برابر با ۱۶/۲- میلی‌ولت است. بنابراین باتوجه به محدوده بالا نانوذره سنتز شده دارای انرژی لازم برای ثبات فیزیکی و پایداری مناسب است (شکل ۲).

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]

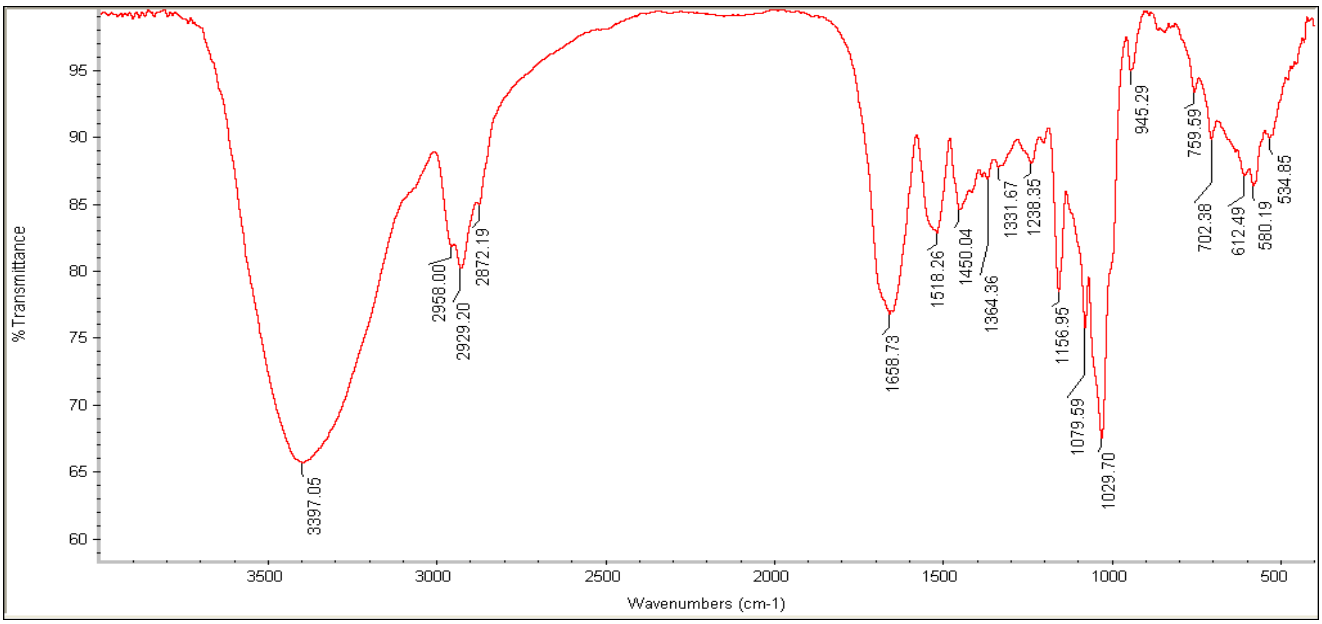


شکل ۲- نمودار اندازه‌گیری پتانسیل زتا نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین

نتایج دستگاه طیف سنجی مادون قرمز (FTIR)

برای بررسی پیوندها، تشخیص گروه‌های عاملی و تعیین ساختار گونه های آلی از تکنیک طیف سنجی مادون قرمز استفاده می‌شود. در این فرآیند اشعه مادون قرمز با cm^{-1} ۱۰۰-۱۰۰۰۰ به نمونه تابیده می‌شود. برخی از این اشعه‌ها جذب و برخی دیگر از نمونه عبور می‌کنند. اشعه‌های جذب شده توسط مولکول‌های نمونه، به انرژی چرخشی و ارتعاشی تبدیل می‌شوند. در نهایت سیگنال‌های نهایی در دامنه cm^{-1} ۴۰۰-۴۰۰۰ توسط آشکارساز نمایش داده می‌شوند. لازم به ذکر است که هر مولکول، طیف مربوط به خود را نشان می‌دهد و اصطلاحاً طیف اثر انگشتی مربوط به خود را دارد، بنابراین تمایل به جذب اشعه مادون قرمز در طیف خاصی را دارند. در این پژوهش طیف سنجی مادون قرمز برای زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین انجام شد که در نمودار طیف سنجی در شکل ۳ نشان داده شده است. در این نمودار، شاهد انتقال پیک‌ها در دامنه cm^{-1} ۳۳۹۷ به پیک cm^{-1} ۱۰۲۹ هستیم که این افزایش پیک مربوط به ارتعاش‌های کششی C-O در محدوده cm^{-1} ۲۹۲۹ به محدوده cm^{-1} ۱۳۶۴ از دیگر نتایج نشان داده شده در این نمودار است که بیانگر برقراری پیوند بین زئین- بتاسیکلودکسترین و نارینجین است.

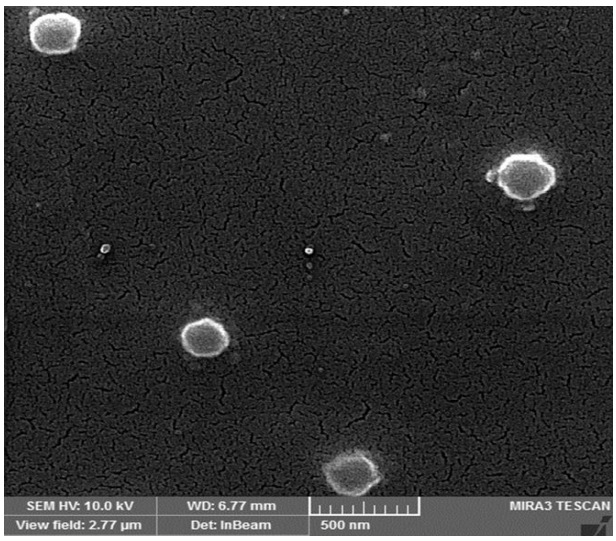
[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]



شکل ۳- طیف IR گرفته شده از نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین کونوژوگه شده با نارینجین

بررسی تصویر نانوذره توسط میکروسکوب الکترونی روبشی

مطابق تصویر میکروسکوپ الکترون روبشی اندازه نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین در محدوده nm ۱۵۰ قرار دارد و از لحاظ مورفولوژی کروی شکل است(شکل ۴).

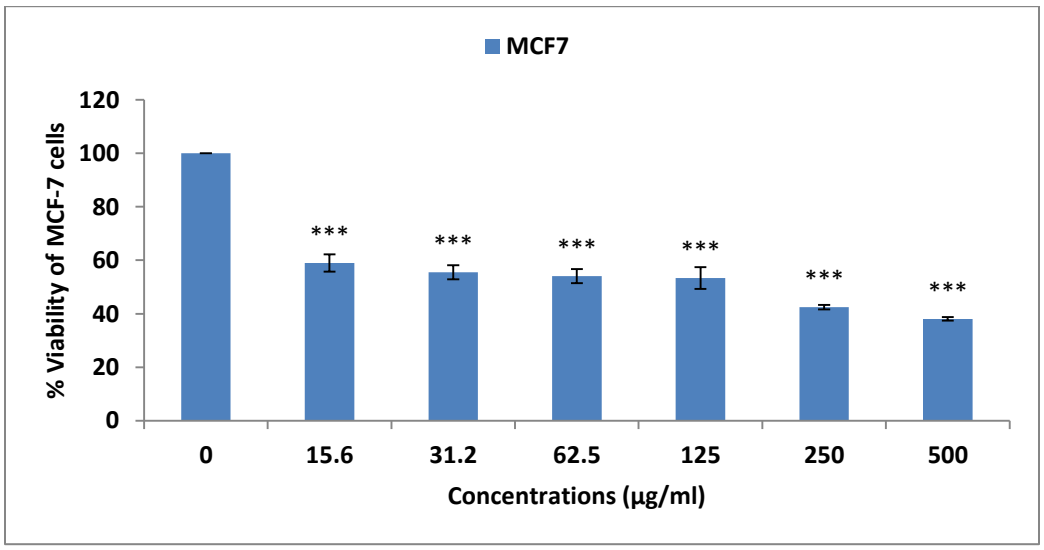


شکل ۴- عکس میکروسکوپ SEM

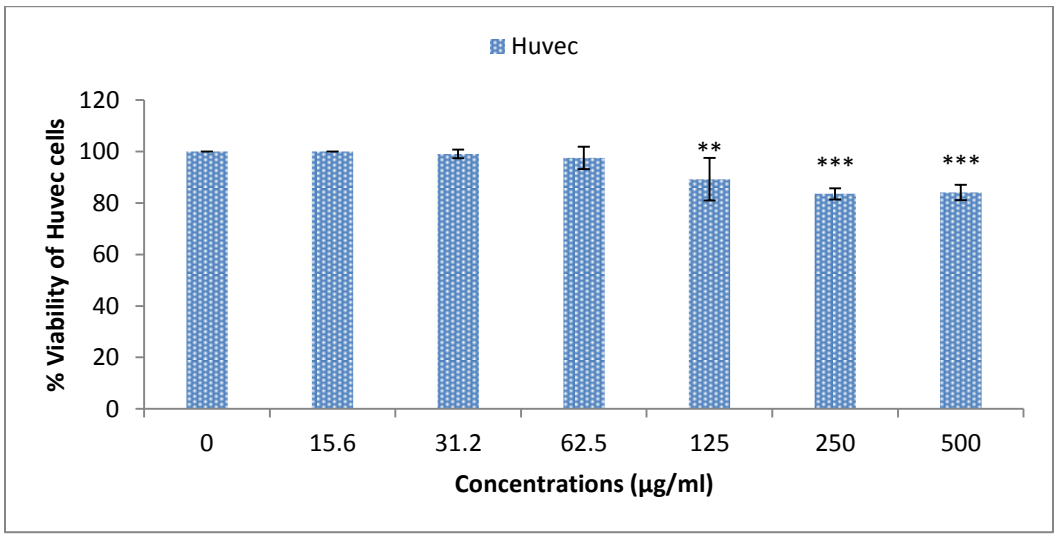
نتایج تست MTT روی رده سلولی MCF-7

در نمودار ۱ میزان زنده‌مانی سلول‌های MCF-7 در زمان ۲۴ ساعت پس از تیمار با نانوذرات زئین- بتاسبکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین نمایش داده شده است. در این نمودار کشندگی معنادار بین بین غلظت‌های مختلف نانوذرات در گروه‌های تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل در رده سلولی سرطان پستان MCF-7 مشاهده می‌شود **(P < ۰/۰۰۱)**. همچنین نمودار ۲ میزان زنده‌مانی رده سلولی نرمال Huvec در زمان ۲۴ساعت پس از تیمار با نانوذرات زئین- بتاسبکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین Huvec را در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌دهد **(P < ۰/۰۱ و P < ۰/۰۰۱)**. بر اساس نتایج حاصل میزان IC50 برای نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین برای رده سلولی سرطانی MCF-7 برابر با ۶۲/۵ µg/ ml می‌باشد. میزان زیستایی سلول‌های Huvec در بالاترین غلظت نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین ۵۰۰µg/ ml حدود ۸۴ درصد محاسبه شد.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]



نمودار ۱- میزان زیستایی سلول‌های MCF-7 در برابرنانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین *** P < ۰/۰۰۱

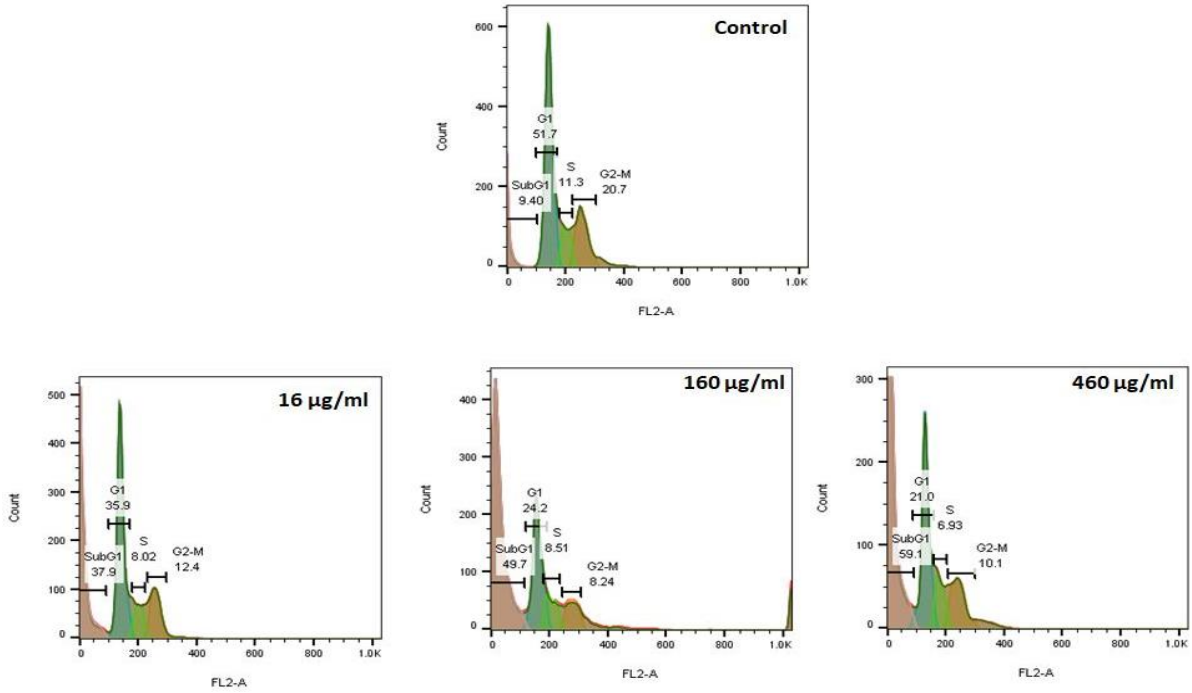


نمودار ۲- میزان زیستایی سلول‌های Huvec در برابرنانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین ** P < ۰/۰۱، *** P < ۰/۰۰۱

بررسی القای آپوپتوز

نتایج حاصل از نمودار ۳ تست فلوسایتومتری نشان‌دهنده افزایش پیک در SubG1 به معنای توقف سلولی در غلظت‌های مختلف نانوذره در مقایسه با گروه کنترل است. بررسی نتایج حاصل از فلوسایتومتری در نمونه کنترل نشان می‌دهد تنها ۹/۴ درصد از سلول‌ها دچار آپوپتوز شده‌اند در حالی که در نمونه‌های تیمار شده با نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین حاوی نارینجین میزان SubG1 که نشانگر سلول‌های آپاپتوتیک است، افزایش داشته و در غلظت µg/ml ۱۶، ۱۶۰ و ۴۶۰ به ترتیب µg/ml ۳۷/۹، ۴۹/۷ و ۵۹/۱ رسیده است.

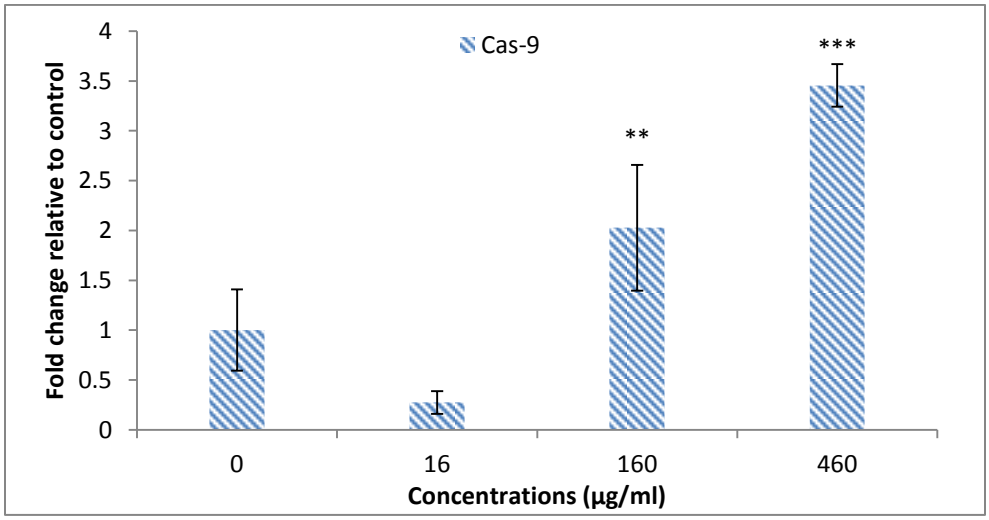
[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]



نمودار ۳- درردیف بالا نمودار کنترل و در ردیف پایین غلظت‌های مختلف نانوذره به ترتیب از چپ به راست غلظت µg/ml ۱۶، ۱۶۰ و ۴۶۰ نشان داده شده است.

بیان ژن *Cas9* در سلول‌های MCF7 تحت تیمار با نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین

تیمار با غلظت‌های µg/ml ۱۶، ۱۶۰ و ۴۶۰ از نانوذرات انجام شد. نمودار۴ نتایج حاصل از Real-time PCR سلول‌ها تحت تاثیر غلظت نانوذرات را نشان می‌دهد. براساس این نمودار بیان این ژن در غلظت‌های ۱۶۰ و ۴۶۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نسبت به غلظت صفر اختلاف معناداری دارد (به ترتیب ($P < ۰/۰۱$ ، $P < ۰/۰۰۱$)).

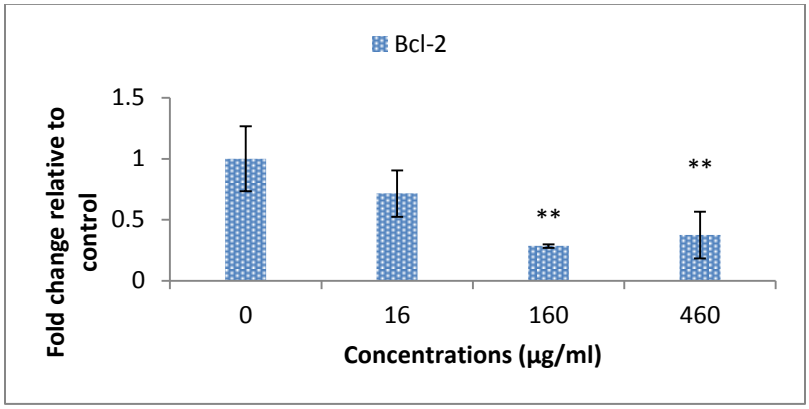


نمودار ۴- مقایسه غلظت‌های مختلف نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین در بیان ژن *Cas9*، $^{**}P < ۰/۰۱$ ، $^{***}P < ۰/۰۰۱$

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]

بیان ژن *Bcl2* در سلول‌های MCF7 تحت تیمار با نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین

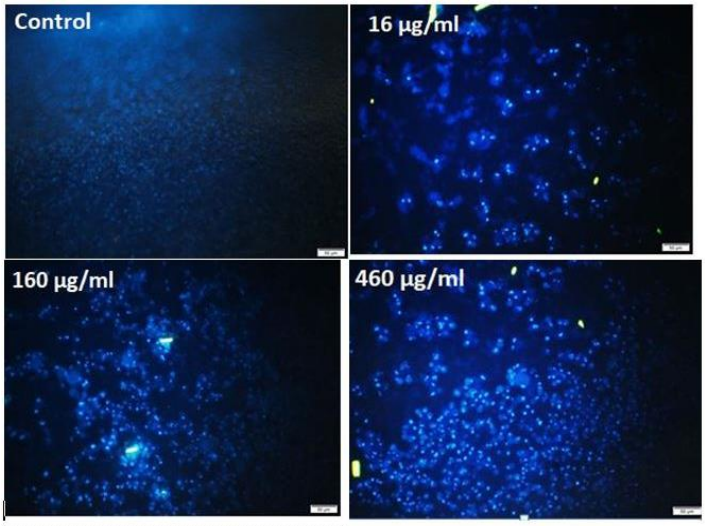
همان‌طور که در نمودار ۵ نشان داده شده است بر اساس نتایج حاصل از Real-time PCR پس از تیمار با غلظت‌های µg/ml ۱۶، ۱۶۰ و ۴۶۰ از نانوذرات میزان بیان ژن *Bcl2* نسبت به کنترل به طور معناداری کاهش نشان داد($P < ۰/۰۱$).



نمودار ۵- مقایسه غلظت‌های مختلف نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین در بیان ژن *Bcl2* ، $P < ۰/۰۱$ **

رنگ‌آمیزی DAPI

DAPI یک رنگ فلورسنت است که با قدرت به نواحی غنی از آدنین و تیمین در DNA متصل می‌شود. به وسیله این رنگ می‌توان سلول‌ها را از نظر مورفولوژی بررسی کرد. مطابق بالا نتایج نشان داده شده در شکل ۵ سلول‌های MCF7 با غلظت‌های IC50 از نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین تیمار شدند و نتایج رنگ‌آمیزی با رنگ DAPI نشان دهنده سالم و یکپارچه بودن هسته‌ها در گروه کنترل (A) و قطعه قطعه شدن هسته‌ها و آپوپتوز در گروه‌های تیماری بود.



شکل ۵- رنگ‌آمیزی DAPI (درشت نمایی۴۰۰ ×) A: گروه شاهد یک‌دست و سالم بودن هسته‌ی سلول‌ها- B: گروه تیمار شده با غلظت µ g/ml ۱۶ از نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین کونژوگه با نارینجین:C گروه تیمار شده با غلظت µ ۱۶۰g/ml از نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین کونژوگه با نارینجین D: گروه تیمار شده با غلظت µ g/ml ۴۶۰ از نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین. در همه سلول‌های تحت تیمار قطعه قطعه شدن هسته سلول مشاهده می‌شود.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]

بحث

هدف ما در این مطالعه، فرمولاسیون نانوذرات زئین- بتا سیکلودکسترین برای افزایش اثر آن روی رده سلولی MCF-۷ بود. بر اساس نتایج حاصل شده نانوذره در اندازه ۱۴۴ نانومتر با پتانسیل زتای ۱۶/۲- mV، یکنواختی شکل و ساختار مورد انتظار سنتز شده است. میزان شاخص پراکندگی PDI معادل ۰/۱۷ محاسبه شد. در pH=۷ سایز نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین در محدوده nm ۱۵۰ قرار داشت که نشان می‌دهد نانوحامل‌های β-CD-Zein-Naringin در شرایط فیزیولوژیکی پایدار می‌مانند.

سنجش MTT، میزان بیان ژن‌های *Cas9* و *Bcl2* و در نهایت سنجش فلوسیتومتری برای ارزیابی آثار β-CD- زئین بر زنده‌مانی سلولی، بیان ژن‌های مرتبط با آپوپتوز انجام شد.

تغییر در میزان بیان ژن‌های *Bcl2* و *Cas9* در سلول‌های MCF7 تحت تیمار با نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین در غلظت‌های µg/ml ۱۶۰ و ۴۶۰ حاکی از اثربخشی این نانوذره است. علاوه براین نتایج حاکی از دارا بودن اثر پروآپوپتوزی نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین بارگذاری شده با نارینجین است به طوری که با افزایش غلظت نانو ذره پیک **SuG1** نیز افزایش می‌یابد و در غلظت ۴۶۰ افزایش سلول‌های آپوپتوز نسبت به غلظت پایین‌تر مشاهده می‌شود که نشان‌دهنده آثار وابسته به غلظت نانو ذرات، نانوذرات زئین- بتاسیکلودکسترین حاوی نارینجین است.

در مطالعه Dong و همکاران در سال ۲۰۱۵ اثرات نانوکپسوله‌سازی بر ضد تکثیر سلول‌های HeLa بررسی شد. یافته‌ها نشان داد که در مقایسه با دوکسوروبیسین آزاد (DOX)، نانوذرات زئین بارگذاری شده با DOX- zein- NPs تأثیر بهتری بر کشتن سلول‌های سرطانی در غلظت‌های پایین DOX داشتند (۱۳).

در سطح سلولی و مولکولی، فلاونوئیدها دارای طیف وسیعی از آثار و فعل و انفعال‌ها هستند که به فعالیت‌های پیشگیری‌کننده شیمیایی و ضدسرطان آنها کمک می‌کند. تعدیل فرآیندهای سلولی مانند چرخه سلولی و آپوپتوز به آثار ضد تکثیر آنها منجر می‌شود (۱۴). نارینجین یک فلاونوئید اصلی است که از گریپ‌فروت و سایر مرکبات استخراج می‌شود. در بدن انسان، نارینجین عمدتاً به نارینجنین و ترکیب‌های آن متابولیزه می‌شود که با دفع کلیوی از بین می‌رود (۱۵). همچنین نتایج مطالعه‌ها نشان داده است که نارینجین در کاهش بیان فاکتورهای سیگنال‌دهی متعددی که در پاسخ التهابی نقش دارند، مانند اینترلوکین-۸ (IL-8)، فاکتور نکروز تومورα (TNF-α)، اینترلوکین-۶ (IL-6) و نیتریک اکسید سنتاز القایی (iNOS) مؤثر است (۱۶).

در مطالعه‌های اولیه درمان نارینجین سبب کاهش تشکیل کانون‌های متاستاتیک و افزایش میزان بقا در موش‌های دارای سلول‌های ملانوم B16FlO شد (۱۷). همچنین در یک مطالعه اخیر درمان با نارینجین به تنهایی یا در ترکیب با نمک سدیم کربوکسی متیل سلولز-فنیل آلانین و کازئینات سدیم- فنیل آلانین سبب کاهش زنده ماندن و تکثیر رده سلولی MCF-7 شد. علاوه بر این، نارینجین در هیبریدها در مقایسه با نارینجین به تنهایی اثر سیتوتوکسیک بیشتری داشت (۱۸). نتایج مطالعه‌های مختلف نشان داده است که نارینجین تکثیر سلولی را سرکوب می‌کند و توقف چرخه G1 و آپوپتوز را همراه با افزایش p21 و کاهش Survivin افزایش می‌دهد. علاوه بر این، مسیر سیگنالینگ β-کاتنین با درمان نارینجین مسدود می‌شود. به همین ترتیب، در مطالعه Yang و همکاران در سال ۲۰۱۳ پتانسیل ضد سرطانی نارینجین در شرایط *in vivo* بررسی شد و نارینجین سبب کاهش حجم و وزن تومور در موش‌های پیوند زنوگرافت MDA-MB-231 تحت درمان با نارینجین شد (۱۹).

در مطالعه گرجی‌خواه و همکاران در سال ۲۰۱۸ رده سلولی سرطان پستان D۴۷T در برابر MTX ساده و PLGA-β-CD بارگذاری شده در دوره‌های زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت آزمایش شد. سیستم نانوذرات به دلیل اثر رهاسازی کنترل شده، سمیت سلولی بهتری را نشان داد. قرائت‌های IC۵۰ برای MTX کپسوله شده کوپلیمری ۰/۳۱۸، ۰/۲۹۴ و ۰/۲۴۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در مقابل ۰/۳۹۱، ۰/۳۶۱ و ۰/۲۸۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای MTX آزاد در ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب بود (۲۰).

علاوه بر این، درمان با نارینجین و کمپلکس‌های فلزی آن سبب کاهش زنده‌مانی و تکثیر سلولی و افزایش آپوپتوز در رده سلولی MCF-7 شد و بر اساس نتایج، کمپلکس‌های فلزی نارینجین بیشترین سمیت سلولی را در برابر سلول‌های سرطانی در مقایسه با نارینجین به تنهایی نشان دادند (۲۱).

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]

در مطالعه حاضر، سنجش زنده ماندن سلول‌های MTT روی سلول‌های MCF-7 بررسی شد. سلول‌ها با غلظت‌های مختلف β-CD-Zein-Naringin از 16 µg/ml، ۱۶۰ تا ۴۶۰ برای ۲۴ ساعت تیمار شدند. نتایج نشان داد که نارینجین تکثیر سلولی MCF-7 را به شیوه‌ای وابسته به دوز مهار می‌کند. مهار تکثیر سلولی مختص سرطان پستان در نظر گرفته می‌شود، زیرا نارینجین اثر بازدارندگی چندانی بر سلول‌های طبیعی Huvec ندارد، که نشان می‌دهد سمیت سلولی روی سلول‌های طبیعی از طریق این ترکیب القا نمی‌شود. علاوه بر این، مطالعه‌های میکروسکپی نشان می‌دهد که نارینجین اثر ضد تکثیری بر سلول‌های MCF-7 در غلظت‌های پایین دارد. بنابراین احتمالاً اگر نارینجین به طور مداوم برای یک دوره زمانی تأثیر داده شود، حتی در غلظت‌های پایین‌تر نیز مؤثر خواهد بود.

در یک مطالعه مرتبط با سرطان دهانه رحم نارینجین با فعال‌شدن مسیر NF-kB-COX-Caspase1، آپوپتوز را در سلول‌های HeLa القا کرد. همچنین نارینجین از طریق توقف چرخه سلولی در فاز G۲/M سلول‌های SiHa دهانه رحم انسان و القای آپوپتوز از طریق اختلال در پتانسیل میتوکندری و فعال شدن مسیر درونی و بیرونی، از تکثیر SiHa (سلول سرطان دهانه رحم انسان) جلوگیری می‌کند (۲۲).

بر اساس نتایج این مطالعه، بیشرین مهار زنده ماندن سلول پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در غلظت ۴۶۰ µg/ml برای ژن *Cas9* و ۱۶۰ µg/mlبرای ژن *Bcl2* به دست آمد، که نشان می‌دهد غلظت خاصی از نانوذرات روی ژن‌های مختلف در مسیر آپوپتوز مؤثر است.

بر اساس نتایج مطالعه‌های انجام شده، مرگ سلولی ناشی از نارینجین در سلول‌های سرطانی پستان مشاهده شده در سنجش سمیت سلولی ممکن است از طریق آپوپتوز رخ دهد. علاوه بر این برای عمل به عنوان آگونیست آپوپتوز احتمالاً از طریق تحریک کاسپاز-۸ و کاسپاز-۳ ارائه عمل می‌کند. کاسپاز ۸ به عنوان آنزیمی شناخته می‌شود که مسیر مرگ سلولی آپوپتوز بیرونی ناشی از فعال شدن گیرنده‌های مرگ را آغاز می‌کند (۲۳). در یک مطالعه، نارینجین با فعال شدن مسیر NF-kB-COX-Caspase1 ، آپوپتوز را در سلول‌های HeLa القا کرد. همچنین نارینجین از طریق توقف چرخه سلولی در فاز G۲/M سلول‌های SiHa دهانه رحم انسان و القای آپوپتوز از طریق اختلال در پتانسیل میتوکندری و فعال شدن مسیر درونی و بیرونی، از تکثیر SiHa (سلول سرطان دهانه رحم انسان) جلوگیری می‌کند (۲۲). باتوجه به نتایج حاصل شده در رابطه با تأثیر β- CD- Zein- Naringin بر میزان بیان ژن‌های *Bcl2*، *Cas9* و القای آپوپتوز به نظر می‌رسد این ساختار در درمان سرطان پستان مناسب است.

گرچه مطالعه‌های متعددی در رابطه با خواص نارینجین انجام شده است، اما تولید نانوذرات زئین بتاسیکلوسترین بارگذاری شده با نارینجین و بررسی آثار آن بر سلول سرطانی دارای نوآوری بوده و از نقاط قوت این تحقیق به شمار می‌رود. از سوی دیگر، سرطان یک بیماری چند عاملی است. بنابراین بررسی میزان بیان ژن‌های دخیل در آپوپتوز برای نتیجه‌گیری کامل کافی نبوده و ضرورت دارد آثار این نانوذرات بر بیان سایر ژن‌های مرتبط ازجمله ژن‌های التهابی و ضدالتهابی نیز بررسی شود.

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های این تحقیق، به نظر می‌رسد نانوذرات زئین بتاسیکلوسترین بارگذاری شده با نارینجین در غلظت مناسب قادر به افزایش بیان ژن *Cas9* و کاهش بیان ژن *BCL2* در سلول‌های سرطان پستان *MCF7* بوده و زنده مانی سلول‌های سرطانی را در غلظت‌های پایین کاهش داده و مرگ سلولی را در این سلول‌ها رقم زده است. بنابراین ناذره مذکور در صورتی که آثار مفید خود را در مطالعه‌های تکمیلی نشان دهد، می‌تواند به عنوان کاندیدای مناسبی برای تولید داروی ضد سرطان مورد توجه قرار گیرد.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه، در دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد بررسی و با کد اخلاق IR.IAU.MSHD.REC.1402.082 ثبت شده است.

تشکر و قدردانی

محققین لازم می‌دانند از مسئولین و کارشناسان گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد جهت همکاری در اجرای این پژوهش تشکر نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان، تعارض منافعی را گزارش نکرده‌اند.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]

References

1. Knijnenburg TA, Wang L, Zimmermann MT, Chambwe N, Gao GF, Cherniack AD, et al. Genomic and Molecular Landscape of DNA Damage Repair Deficiency across The Cancer Genome Atlas. Cell Rep. 2018;23(1):239-54.e6.

2. DeSantis CE, Ma J, Goding Sauer A, Newman LA, Jemal A. Breast cancer statistics, 2017, racial disparity in mortality by state. 2017;67(6):439-48.

3. Karthic A, Roy A, Lakkakula J, Alghamdi S, Shakoori A, Babalghith AO, et al. Cyclodextrin nanoparticles for diagnosis and potential cancer therapy :A systematic review. Front Cell Dev Biol. 2022;10:984311.

4. Pascoli M, De Lima R, Fraceto LFJFic. Zein nanoparticles and strategies to improve colloidal stability: A mini-review. 2018;6:6.

5. Mosayyebi B, Imani M, Mohammadi L, Akbarzadeh A, Zarghami N, Alizadeh E, et al. Comparison Between β-Cyclodextrin-Amygdalin Nanoparticle and Amygdalin Effects on Migration and Apoptosis of MCF-7 Breast Cancer Cell Line. Journal of Cluster Science. 2022;33(3):935-47.

6. Wang Q, Tang Y, Yang Y, Lei L, Lei X, Zhao J, et al. Interactions and structural properties of zein/ferulic acid: The effect of calcium chloride. 2022;373:131489.

7. Tapia-Hernández JA, Rodríguez-Felix F, Juárez-Onofre JE, Ruiz-Cruz S, Robles-García MA, Borboa-Flores J, et al. Zein-polysaccharide nanoparticles as matrices for antioxidant compounds: A strategy for prevention of chronic degenerative diseases. Food Res Int. 2018;111:451-71.

8. Shao S, Si J, Tang J, Sui M, Shen YJM. Jellyfish-shaped amphiphilic dendrimers: synthesis and formation of extremely uniform aggregates. 2014;47(3):916-21.

9. Tortorella S, Maturi M, Vetri Buratti V, Vozzolo G, Locatelli E, Sambri L, et al. Zein as a versatile biopolymer: different shapes for different biomedical applications. RSC Adv. 2021;11(62):39004-26.

10. Yin L, Cheng W, Qin Z, Yu H, Yu Z, Zhong M, et al. Effects of Naringin on Proliferation and Osteogenic Differentiation of Human Periodontal Ligament Stem Cells In Vitro and In Vivo. Stem Cells International. 2015;2015:758706.

11. Garg NK, Singh B, Jain A, Nirbhavane P, Sharma R, Tyagi RK, et al. Fucose decorated solid-lipid nanocarriers mediate efficient delivery of methotrexate in breast cancer therapeutics. 2016;146:114-26.

12. Leroy C, Delbarre-Ladrat C, Ghillebaert F, Rochet MJ, Compère C, Combes D. A marine bacterial adhesion microplate test using the DAPI fluorescent dye: a new method to screen antifouling agents. Letters in Applied Microbiology. 2007;44(4):372-8.

13. Dong F, Dong X, Zhou L, Xiao H, Ho P-Y, Wong M-S, et al. Doxorubicin-loaded biodegradable self-assembly zein nanoparticle and its anti-cancer effect: Preparation, in vitro evaluation, and cellular uptake. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2016;140:324-31.

14. Ramesh E, Alshatwi AA. Naringin induces death receptor and mitochondria-mediated apoptosis in human cervical cancer (SiHa) cells. Food and Chemical Toxicology. 2013;51:97-105.

15. Li H, Yang B, Huang J, Xiang T, Yin X, Wan J, et al. Naringin inhibits growth potential of human triple-negative breast cancer cells by targeting β-catenin signaling pathway. Toxicology Letters. 2013;220(3):219-28.

16. Habauzit V, Sacco SM, Gil-Izquierdo A, Trzeciakiewicz A, Morand C, Barron D, et al. Differential effects of two citrus flavanones on bone quality in senescent male rats in relation to their bioavailability and metabolism. 2011;49(5):1108-16.

17. Menon LG, Kuttan R, Kuttan GJCl. Inhibition of lung metastasis in mice induced by B16F10 melanoma cells by polyphenolic compounds. 1995;95(1-2):221-5.

18. Basta AH, Lotfy VF, Ghaly NS, Nabil M , Mohamed KMJJoDDS, Technology. Bioactivity evaluation of amino acid-conjugates with protein versus cellulose based conjugates and extracted flavonoids. 2020;60:101924.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]

19. Lia H, Yanga B, Huanga JJTL. Naringinin hibits growth potential of human triple-negative breast cáncer cells by targeting®-catenin signaling pathway. 2013;220:219-28.

20. Gorjikhah F, Azizi Jalalian F, Salehi R, Panahi Y, Hasanzadeh A, Alizadeh E, et al. Preparation and characterization of PLGA-β-CD polymeric nanoparticles containing methotrexate and evaluation of their effects on T47D cell line. 2017;45(3):432-40.

21. Atta EM, Hegab KH, Abdelgawad AAM, Youssef AA. Synthesis, characterization and cytotoxic activity of naturally isolated naringin-metal complexes. Saudi pharmaceutical journal : SPJ : the official publication of the Saudi Pharmaceutical Society. 2019;27(4):584-92.

22. Ramesh E, Alshatwi AA. Naringin induces death receptor and mitochondria-mediated apoptosis in human cervical cancer (SiHa) cells. Food Chem Toxicol. 2013;51:97-1.5.

23. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. Toxicol Pathol. 2007;35(4):495-516.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-07]