Journal of Ilam University of Medical Sciences

P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

Investigating the effect of iron oxide nanoparticles coated with glucose and conjugated with safranal on the survival and expression of some genes related to cell death in liver cancer cells

Somayeh Mikaeili Ghezeljeh [1], Ali Salehzadeh [1*], Somayeh Ataei-e jaliseh [1]

[1] Dept of Biology, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

Article Info

Article type:
Research article

Article History:
Received: Dec. 07, 2023
Received in revised form: Jul. 11, 2024
Accepted: Jul. 14, 2024
Published Online: Dec. 05,2024

**** Correspondence to:***
Ali Salehzadeh
Dept of Biology, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

Email:
a.salehzadeh@iau.ac.ir

A B S T R A C T

Introduction: The high incidence and mortality rates of liver cancer have raised concerns about the effectiveness of current treatments. This study aimed to synthesize iron oxide nanoparticles coated with glucose and conjugated with Safranal (Fe_3O_4@Glu-Safranal) and investigate its effect on the viability and expression of the *CASP8*, *CASP9*, *p53*, and *CAD* genes in a liver cancer cell line (HepG2).

Materials & Methods: HepG2 cells were treated with different concentrations of the nanoparticles, and the effect of nanoparticles on cell viability was determined using the MTT test. After determining the inhibitory percentage of different concentrations of nanoparticles, the cells were treated with 50% inhibitory concentration of the nanoparticles, their total RNA was extracted, cDNA was synthesized, and gene expression level was evaluated by real-time PCR. The statistical tests included one-way ANOVA and paired t-test, which were analyzed by SPSS V.22 at a level of significance less than 0.05.

Results: The results showed that the Fe_3O_4@Glu-Safranal nanoparticle at concentrations higher than 62.5 µg/ml causes a significant decrease in the survival rate of cancer cells. A 50% inhibitory concentration of the nanoparticle for liver cancer cell lines was found to be 277 and 458 µg/ml, respectively. This showed that the nanoparticle had stronger cytotoxic effects on cancer cells. Also, it was observed that treatment of the cells with Fe_3O_4@Glu-Safranal caused a significant increase in the expression of the *CASP8*, *CASP9*, *p53*, and *CAD* genes by 4.27, 2.09, 3.92, and 1.76 folds, respectively, in liver cancer cells ($P < 0.05$).

Conclusion: Apoptosis induction can be considered the main anticancer mechanism of the Fe_3O_4@Glu-Safranal nanoparticle, which is caused in response to direct cell damage or generated oxidative stress.

Keywords: Apoptosis, Caspase, Liver cancer, Safranal

How to cite this paper: Mikaeili Ghezeljeh S, Salehzadeh A, Ataei-e jaliseh S. Investigating the effect of iron oxide nanoparticles coated with glucose and conjugated with safranal on the survival and expression of some genes related to cell death in liver cancer cells. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2024;32(5):50-66.

Introduction

Liver cancer, the seventh most common type of cancer and the second cause of cancer-related deaths worldwide, is known for its widespread and acute nature (1). Treatment approaches for this disease often fail due to the complex treatment process, unwanted toxic side effects of current drugs, the emergence of drug-resistant types, and metastasis (3). Researchers have studied a wide range of nanoparticles, especially metal nanoparticles, in the field of cancer detection and treatment since the emergence of nanotechnology (2,3). Due to their small size, these substances can easily penetrate the body's tissues and effectively influence cells through their large surface area (4). Safranal is one of the most important metabolites of the saffron plant, which has many medicinal properties, including anti-inflammatory, antioxidant, anti-pain, and anti-cancer effects (5). Previous studies have shown that this substance can disrupt DNA replication and repair in some cancer cells and cause cell death (9). This study aimed to synthesize iron oxide nanoparticles coated with glucose and conjugated with safranal (Fe_3O_4@Glu-Safranal) and investigate their effect on the viability and expression of the CASP8, CASP9, p53, and CAD genes in a liver cancer cell line (HepG2).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

© The Author(s)

Publisher: Ilam University of Medical Sciences

Methods

All materials and solutions used in this research were of laboratory-grade purity. Liver cancer cell line (HepG2) and normal human fibroblast cells (HEK293) were obtained from the cell bank of Pasteur Institute of Iran. Nanoparticle fabrication was done according to the method reported in study (10), which evaluated the physical and chemical properties of Fe_3O_4@Glu-Safranal nanoparticles, FT-IR (Fourier Transform Infrared), XRD (X-ray Diffraction), measurement of adulteration potential, and imaging of transmission electron microscopes (TEM) and scanning electron microscopy (SEM), and the elemental composition was analyzed by X-ray diffraction spectroscopy (EDS-mapping) test. HepG2 cells were treated with different concentrations of the nanoparticles, and the effect of nanoparticles on cell viability was determined using the MTT test. After determining the inhibitory percentage of different concentrations of nanoparticles, the cells were treated with 50% inhibitory concentration of the nanoparticles, their total RNA was extracted, cDNA was synthesized, and gene expression level was evaluated by real-time PCR. The statistical tests included one-way ANOVA and paired t-test, which were analyzed by SPSS V.22 at a level of significance less than 0.05.

Results

T Based on the FTIR spectrum, the peaks for Fe_0O_4 and Safranal show that the Fe_0O_4@Glu-Safranal nanoparticle was made correctly. Electron microscope imaging showed that Fe_3O_4@Glu-Safranal nanoparticles are spherical, and their size is in the range of 17-49 nm. The MTT test showed that the Fe_0O_4@Glu-Safranal nanoparticle lowers the survival rate of cancer cells by a large amount when the concentration is higher than 62.5 µg/ml. A 50% inhibitory concentration of the nanoparticle for liver cancer cell lines was found to be 277 and 458 µg/ml, respectively. This showed that the nanoparticle had stronger cytotoxic effects on cancer cells. Also, it was observed that treatment of the cells with Fe_3O_4@Glu-Safranal caused a significant increase in the expression of the *CASP8*, *CASP9*, *p53*, and *CAD* genes by 4.27, 2.09, 3.92, and 1.76 folds, respectively, in liver cancer cells ($P < 0.05$).

Conclusion

EtThe findings showed that the synthesized nanoparticle made it much less likely for cancer cells to survive and increased the expression of the *CASP8*, *CASP9*, *CAD*, and *p53* genes. Besides, it can be concluded that the activation of apoptosis is the most likely mechanism of the anticancer effect of the Fe_3O_4@Glu-Safranal nanoparticle in studied cells.

Authors' Contribution

Conceptualization, Methodology, Validation, Software, Formal Analysis, Investigation,

Resources, Data Curation, Writing– Original Draft Preparation, Writing– Review & Editing,

Visualization, Supervision, Project Administration: SMG, AS, SA.

Ethical Statement

The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Funding

No funding.

Acknowledgment

The authors of the article are extremely grateful to the Biology Laboratory of Islamic Azad University of Rasht for the support of this study.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام

JIUMS

P-ISSN: ۱۵۶۳-۴۷۲۸

E-ISSN: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

بررسی اثر نانوذرهٔ اکسید آهن پوشش‌دهی‌شده با گلوکز و کنژوگه‌شده با سافرانال روی زنده‌مانی و بیان ژن‌ها در سلول‌های ردهٔ سرطان کبد

سمیه میکائیلی قزلجه[۱]، علی صالح زاده[۱*]، سمیه عطایی جلیسه[۱]

[۱] گروه زیست شناسی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۱۶

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۴/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۲۴

تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۹/۱۵

نویسنده مسئول:
علی صالح زاده
گروه زیست شناسی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

Email:
a.salehzadeh@iau.ac.ir

چکیده

مقدمه: نرخ بالای ابتلا و تلفات ناشی از سرطان کبد نگرانی‌های فراوانی دربارهٔ میزان اثربخشی درمان‌های کنونی ایجاد کرده است. این مطالعه با هدف ساختن نانوذرهٔ اکسید آهن پوشش‌دهی‌شده با گلوکز و کنژوگه‌شده با سافرانال و بررسی اثر آن روی زنده‌مانی و بیان ژن‌های *کاسپاز ۸*، *کاسپاز ۹*، *p53* و *CAD* در سلول‌های ردهٔ سرطان کبد انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: سلول‌های ردهٔ سرطان کبد به مدت ۲۴ ساعت با غلظت‌های مختلف نانوذره تیمار شدند و اثر نانوذره بر زنده‌مانی سلول‌ها با استفاده از آزمایش ام‌تی‌تی تعیین گردید؛ پس از محاسبهٔ درصد مهاری غلظت‌های مختلف نانوذره، سلول‌ها با غلظت نیمه‌مهاری تیمار شدند، محتوی آر ان ای همهٔ آنان استخراج گردید، مولکول دی‌ان‌ای مکمل سنتز شد و میزان بیان ژن‌ها با آزمایش Real-Time PCR بررسی گردید.

یافته‌های پژوهش: نانوذرهٔ سافرانال در غلظت‌های بالاتر از ۶۲/۵ میکروگرم/میلی‌لیتر سبب کاهش چشمگیر میزان زنده‌مانی سلول‌های سرطانی شد؛ همچنین غلظت نیمه‌مهاری نانوذره برای سلول‌های ردهٔ سرطان کبد و سلول‌های غیرسرطانی به‌ترتیب ۲۷۷ و ۴۵۸ میکروگرم/میلی‌لیتر بود که نشان‌دهندهٔ آثار سایتوتوکسیک قوی‌تر نانوذره بر سلول‌های سرطانی بود. مشاهده شد که تیمار سلول‌ها با سافرانال سبب افزایش معنی‌دار بیان ژن‌های *کاسپاز ۸*، *کاسپاز ۹*، *p53* و *CAD* به میزان به‌ترتیب ۴/۲۷، ۲/۰۹، ۳/۹۲ و ۱/۷۶ برابری در سلول‌های ردهٔ سرطان کبد می‌شود.

بحث و نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج این مطالعه، القای آپوپتوز را می‌توان به‌عنوان سازوکار اصلی ضدسرطانی نانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal در نظر گرفت که در پاسخ به آسیب‌های سلولی مستقیم یا ناشی از ایجاد استرس اکسیداتیو توسط نانوذره رخ می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: سافرانال، سرطان کبد، آپوپتوز، کاسپاز

استناد: میکائیلی قزلجه سمیه، صالح زاده علی، عطایی جلیسه سمیه. بررسی اثر نانوذرهٔ اکسید آهن پوشش‌دهی‌شده با گلوکز و کنژوگه‌شده با سافرانال روی زنده‌مانی و بیان ژن‌ها در سلول‌های ردهٔ سرطان کبد. *مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام*، آذر ۱۴۰۳؛ (۵)۳۲: ۶۶-۵۰.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

CC BY NC

حق‌مؤلف © نویسندگان

مقدمه

سرطان کبد یکی از فراگیرترین و حادترین انواع سرطان در سرتاسر جهان شناخته می‌شود، به‌طوری‌که در سالیان اخیر این بیماری هفتمین نوع سرطان از نظر فراوانی و دومین عامل مرگ‌ومیر ناشی از سرطان بوده است (۱). روند پیچیدهٔ درمانی، عوارض سمیتی ناخواستهٔ داروهای کنونی، پیدایش انواع مقاوم به دارو و متاستاز را می‌توان به‌عنوان علل مهم شکست رویکردهای درمانی این بیماری دانست (۲).

به دنبال ظهور فناوری نانو، طیف گسترده‌ای از نانوذرات، به‌ویژه نانوذرات فلزی، در زمینهٔ شناسایی و درمان سرطان مطالعه شده‌اند. چنین موادی به‌سبب اندازهٔ کوچکی که دارند، می‌توانند به‌خوبی به بافت‌های بدن برسند و به علت سطح وسیعشان اثر مدنظر را بر سلول‌ها اعمال کنند. نانوذرات فلزی در شکل خالص خود موفقیت چندانی در این زمینه نداشته‌اند. بیشترین موانع در کاربرد فراگیر آنان در این حوزه را می‌توان به آثار غیراختصاصی آنان و زیست‌سازگاری اندکشان مرتبط دانست (۳). با در نظر گرفتن چنین معایبی، مطالعات جدید به حوزهٔ طراحی و به‌کارگیری نانوذرات مهندسی‌شده معطوف گردیده است. در چنین فرایندی، با دست‌کاری‌های سطحی نانوذرات می‌توان پایداری، اثربخشی یا هدایت‌پذیری آنان در بدن را بهبود داد. یکی از رویکردهایی که اخیراً در این زمینه موردتوجه قرار گرفته است، پوشش‌دهی و عامل‌دارسازی نانوذرات با مولکول‌های آلی زیست‌سازگار همچون اسیدهای آمینه، پلیمرها و قندهایی مثل گلوکز است. چنین ترکیباتی می‌توانند مولکول‌های طبیعی و یا مشتقات آنان باشند و با هدف بهبود کارآمدی نانوذرات استفاده شوند (۴).

به‌سبب قابلیت هدایت‌پذیری تحت نیروی مغناطیسی، نانوذرات مغناطیسی ابزار نویدبخشی در زمینه‌های مختلف پزشکی ازجمله تشخیص بافت‌های سرطانی بوده‌اند. علاوه بر این، این ذرات می‌توانند به‌عنوان حاملی برای دارورسانی به سلول‌های سرطانی همراه باشند. در این فرایند، نانوذرات مغناطیسی می‌توانند به‌عنوان بستری به‌منظور لایه‌نشانی ترکیبات دارویی عمل کنند و به کمک استفاده از یک نیروی مغناطیسی بیرونی، به بافت‌های هدف هدایت شوند. استفاده از چنین سامانه‌هایی در درمان سرطان می‌تواند مزیت‌های متعددی داشته باشد؛ ازجمله کاهش عوارض سمیت عمومی به علت کاهش انتشار و انباشت نانوذرات در سایر نقاط بدن، بهبود اثربخشی به‌سبب افزایش غلظت منطقه‌ای دارو در ناحیهٔ توموری و دسترسی سریع‌تر دارو به سلول‌های سرطانی (۵). بر اساس این، استفاده از نانوذرات اکسید آهن بسیار موردتوجه قرار گرفته است. این ذرات علاوه بر داشتن خاصیت مغناطیسی، به‌عنوان ترکیبات نسبتاً زیست‌سازگار در نظر گرفته می‌شوند و بر اساس این، استفاده گسترده‌ای در زمینه‌های زیستی و پزشکی یافته‌اند؛ همچنین تعدادی از مطالعات پیشین نشان داده‌اند که این ذرات خودشان نیز خاصیت مهاری علیه برخی از انواع سلول‌های سرطانی داشته‌اند (۷، ۶).

استفاده از گیاه زعفران به‌منظور کنترل و درمان برخی از بیماری‌ها از گذشته موردتوجه بوده است. سافرانال به همراه کروسین و کروستین مهم‌ترین متابولیت‌های این گیاه به‌شمار می‌آیند. سافرانال که عامل اصلی طعم و عطر زعفران است، خواص متعدد دارویی ازجمله آثار ضدالتهابی، ضداکسیدانی، ضددرد و ضدسرطانی دارد. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که این ماده می‌تواند تکثیر و ترمیم DNA را در برخی از سلول‌های سرطانی مختل کند و سبب مرگ سلول‌ها شود، اگرچه حلالیت اندک این ماده در آب یکی از معایب آن به‌منظور استفاده‌های درمانی است (۹، ۸).

بر اساس مطالب ذکرشده، در این پژوهش به بررسی اثر نانوذرهٔ اکسید آهن پوشش‌دهی‌شده با گلوکز و کنژوگه‌شده با سافرانال (Fe_3O_4@Glu-Safranal) روی زنده‌مانی سلول‌های ردهٔ سرطان کبد و بیان برخی از ژن‌های مؤثر در فرایند مرگ برنامه‌ریزی‌شدهٔ سلول (آپوپتوز) شامل *CASP8*، *CASP9*، *p53* و *CAD* در سلول‌های ردهٔ سرطان کبد (HepG2) پرداخته شد. نتایج این پژوهش می‌تواند در طراحی و فرمولاسیون نانوذرات مهندسی‌شده با استفاده از ترکیبات طبیعی به‌منظور کنترل و درمان بیماری‌ها استفاده گردد.

مواد و روش‌ها

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

مواد و سلول‌های مورد استفاده‌شده:

همهٔ مواد و محلول‌های استفاده‌شده در این پژوهش دارای خلوص با درجهٔ آزمایشگاهی بودندداشتند. سافرانال مورد استفاده‌شده از شرکت سیگما-آلدریچ (CAS number: 116-26-7) تهیه شد. ردهٔ سلولی سرطان کبد (HepG2) و سلول‌های فیبروبلاست طبیعی انسان (HEK293) از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه شدند گردیدند. کشت سلول‌ها در محیط کشت Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM) medium ساخت شرکت مرک انجام پذیرفت.

ساخت نانوذرهنانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal:

ساخت نانوذرهنانوذرهٔنانوذره بر اساس روشی صورت گرفت که در مطالعهٔ‌ای قبلی توسط شکراللهی و همکاران (۲۰۲۳) گزارش‌شدهگزارش شده بود انجام شد (۱۰). در ابتدا، به‌منظوربه منظور ساختن نانوذرهنانوذرهٔ Fe_3O_4 ، مقدار ۷/۵۷ گرم نمک‌های کلرید آهن شش آبه و ۳/۱۷ گرم کلرید آهن چهار آبه به آب مقطر افزوده شد گردید و به مدت یک ساعت در دمای ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد حرارت داده شد. در مرحلهٔ بعد، ۴۰ میلی‌لیتر محلول آمونیاک افزوده گردید شد و حرارت دهی به مدت یک ساعت دیگر ادامه یافت. در پایان، نانو ذراتنانوذرات اکسید آهن جمع‌آوری‌شدهجمع آوری شده و در دمای ۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد خشک شدند (شدند(۱۰).

به‌منظوربه منظور پوشش دهی نانوذرهنانوذرهٔنانوذره، ابتدا نانوذرهنانوذرهٔ اکسید آهن (یک گرم) و د-گلوکز (نیم گرم) در آب مقطر با یکدیگر مخلوط گردیدند شدند و سپس به مدت ۳۰ دقیقه سونیکیت شدند و مخلوط واکنش به مدت ۳ ساعت در ۱۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد حرارت داده شد. درنهایتدر نهایت، نانوذرهنانوذرهٔ پوشش‌دهی‌شدهپوشش دهی شده با گلوکز جمع‌آوری گردید شد و در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد خشک شد (شد(۱۰). برای کنژوگه کردن سافرانال، نانوذرهنانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu و سافرانال با نسبت ۱:۱۰ در آب مقطر با یکدیگر مخلوط گردید شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق هم زده شد؛ سپس، نانوذرهنانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal با استفاده از سانتریفوژ جمع‌آوری و سپس خشک گردید شد (شد(۱۱).

بررسی ویژگی‌های نانوذرهنانوذرهٔ ساخته‌شده:

به‌منظوربه منظور ارزیابی برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نانوذرهنانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal از آنالیزهای سری تبدیل فوریه ، پراش اشعهٔ ایکس ، سنجش پتانسیل زنا و تصویربرداری میکروسکوپ‌های الکترونی گذاره و نگاره و آنالیز ترکیب عنصری با آزمایش طیف‌سنجی پراش اشعهٔ ایکس استفاده شد. آزمایش FT-IR با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر Nicolet IR-100 و در محدودهٔ 4000-500 cm-1 و با هدف مقایسهٔ گروه‌های عاملی سطحی سافرانال، نانوذرهنانوذرهٔ اکسید آهن و نانوذرهنانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal انجام گردیدشد. آزمایش پراش اشعهٔ ایکس نیز با هدف بررسی ویژگی‌های کریستالی نانوذرهنانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal انجام صورت پذیرفتگرفت. تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی با استفاده از میکروسکوپ‌های Zeiss EM-900 TEM و TESCAN Mira3 SEM و با هدف بررسی ویژگی‌های شکلی و اندازهٔ ذرات انجام شد. همچنین،؛ همچنین با استفاده از آنالیز پتانسیل زتا بار سطحی نانوذرهنانوذرهٔنانوذره در محیط آبی مورد ارزیابی گردید قرار گرفت (Malvern zetasizer Instruments Ltd, 6.32).

آزمایش زنده‌مانی سلولی:

به‌منظوربه منظور ارزیابی اثر نانوذرهنانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal بر زنده‌مانی سلول از آزمایش ام تی تی استفاده شد. در این آزمایش اثر نانوذرهنانوذرهٔنانوذره بر زنده‌مانی سلول‌های ردهٔ سرطان کبد و سلول‌های طبیعی فیبروبلاست انسانی مورد بررسی قرار گردیدگرفت. ابتدا سلول‌های مذکور یادشده در محیط کشت سلولی DMEM و در پلیت‌هاپلیت های کشت سلولی رشد داده شد و پس از تهیهٔ تک لایهٔ سلولی، سلول‌ها با غلظت‌های مختلف نانوذرهنانوذرهٔنانوذره (۳۱/۲۵ -۱۰۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر) تیمار گردیدندشدند. تعدادی از چاهک‌های پلیت نیز به‌عنوانبه عنوان شاهد در نظر گرفته شدند که و دارو دریافت نکردند.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفتند و سپس محیط کشت سلولی به‌آرامیبه آرامی از چاهک‌ها تخلیه گردید شد و ۲۰۰ میکرولیترمیکرو لیتر محلول MTT (2-(4,5-dimethythiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazolium bromide) به چاهک‌ها افزوده شد. پس از انکوباسیون سلول‌ها به مدت ۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد، چاهک‌ها تخلیه گردید شدهتخلیه شده و ۲۰۰ میکرولیترمیکرو لیتر محلول دی‌متیلدی متیل سولفوکسید افزوده شد. پس از سپری شدن زمان ۳۰ دقیقه به‌منظوربه منظور انحلال کریستال‌های تشکیل‌شدهتشکیل شده، جذب نوری هر چاهک در طول‌موجطول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه خوانشگر پلیت الایزا (Bio-Rad) سنجیده شد و با چاهک‌های شاهد مقایسه گردید. درصد مهار رشد سلولی توسط غلظت‌های مختلف نانوذرهنانوذرهٔنانوذره از طریق رابطهٔ زیر محاسبه شد و غلظت مهاری ۵۰٪ درصد به‌منظوربه منظور استفاده در آزمایش بعدی مورد استفاده گردید قرار گرفت (۱۲-۱۰).

$$\text{درصد مهار} = 100 - [\frac{\text{جذب نوری نمونه}}{\text{جذب نوری شاهد}} \times 100]$$

بیان ژن‌های مسیر آپوپتوز:

بیان برخی از ژن‌های تنظیم‌کنندهٔهتنظیم کننده مسیر آپوپتوز شامل دی ان آز فعال شونده توسط کاسپاز ، پی ۵۳ ، کاسپاز ۸ و کاسپاز ۹ در سلول‌های سرطان کبد تیمار شده با Fe_3O_4@Glu-Safranal نسبت به سلول‌های شاهد، با استفاده از آزمایش ریل تایم پی سی آر ارزیابی شد. در ابتدا، سلول‌ها با نانوذرهنانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal دردر محیط DMEM با غلظت نیمه مهارینیمه‌مهاری تیمار گردیدندشدند. چاهک‌های فاقد بدون نانوذرهنانوذرهٔنانوذره نیز به‌عنوانبه عنوان شاهد در نظر گرفته شد. پس از انکوباسیون سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد، سلول‌ها جداسازی گردیدند شده و با بافر فسفات نمکی شستشو داده شدند. محتوی RNA کل از سلول‌ها با استفاده از محلول تجاری TriZol (امریکا) استخراج گردید شد و کمیت و کیفیت RNA استخراج‌شدهاستخراج شده با استفاده از دستگاه نانودراپ بررسی شد؛ سپس مولکول cDNA با استفاده از کیت تجاری سنتز cDNA (TakarA، ژاپن) ساخته شد. به‌منظور به منظور تکثیر ژن‌ها از پرایمرهای ذکرشدهذکر شده در جدول شمارهٔ ۱ و کیت تجاری یکتا تجهیز (ایران) استفاده گردید شد (ABI 7300 real-time PCR system (Applied Biosystems)). شرایط دمایی و زمانی تکثیر ژن‌هاژن ها در جدول شمارهٔ ۲ ذکرشدهذکر شده است.

جدول شماره ۱. توالی پرایمرهای استفاده‌شده برای سنتز ژن‌ها

نام ژن	توالی (′۳-′۵)	منبع
CAD (Forward)	TGGCAGAGATCGGAGAGCAT	(۲۵)
CAD (reverse)	TCCTTCCATCCCTTCAGAGACTT	
GAPDH (forward)	CCCACTCCTCCACCTTTGAC	(۲۴)
GAPDH (reverse)	CATACCAGGAAATGAGCTTGACAA	
p53(forward)	CATCTACAAGCAGTCACAGCACAT	(۲۵)
p53(reverse)	CAACCTCAGGCGGCTCATAG	
CASP8 (forward)	GACTGGATTTGCTGATTACCTACCTAA	(۲۴)
CASP8(reverse)	CCTCAATTCTGATCTGCTCACTTCT	
CAS 9(forward)	CCAGATGCCACCCCGTT	(۲۵)
CASP9 (reverse)	CCCACTGCTCAAAGATGTCGT	

جدول شماره ۲. شرایط زمانی و دمایی تکثیر ژن‌ها در واکنش Real-Time PCR

	زمان	دما (درجهٔ سانتی‌گراد)	مراحل
	۱۰ دقیقه	۹۵	واسرشت‌سازی اولیه
۴۰ سیکل	۱۵ ثانیه	۹۵	واسرشت‌سازی
	۶۰ ثانیه	۶۰	اتصال پرایمر به الگو

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

	۱۵ ثانیه	۷۲	بسط

ژن GAPDH به‌عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد و از روش۲-ΔΔCT و از فرمول‌های زیر به‌منظور ارزیابی بیان ژن‌ها استفاده گردید (۱۳).

ΔCt = Ct (ژن هدف) – Ct (ژن کنترل داخلی)

ΔΔCt = ΔCt (تیمار) – Ct (شاهد)

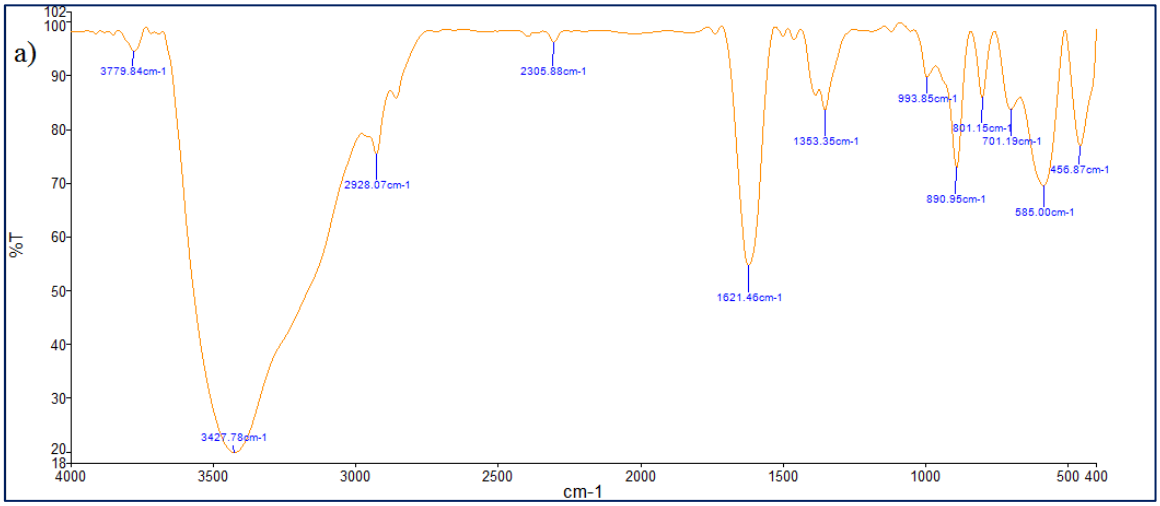
تغییر بیان = $2^{-\Delta\Delta CT}$

تجزیه‌وتحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS vol.22 صورت گرفت و بررسی تفاوت آماری در آزمایش MTT توسط آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و تغییرات بیان ژن نیز با آزمون تی (t student test) بررسی شد. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ نیز به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

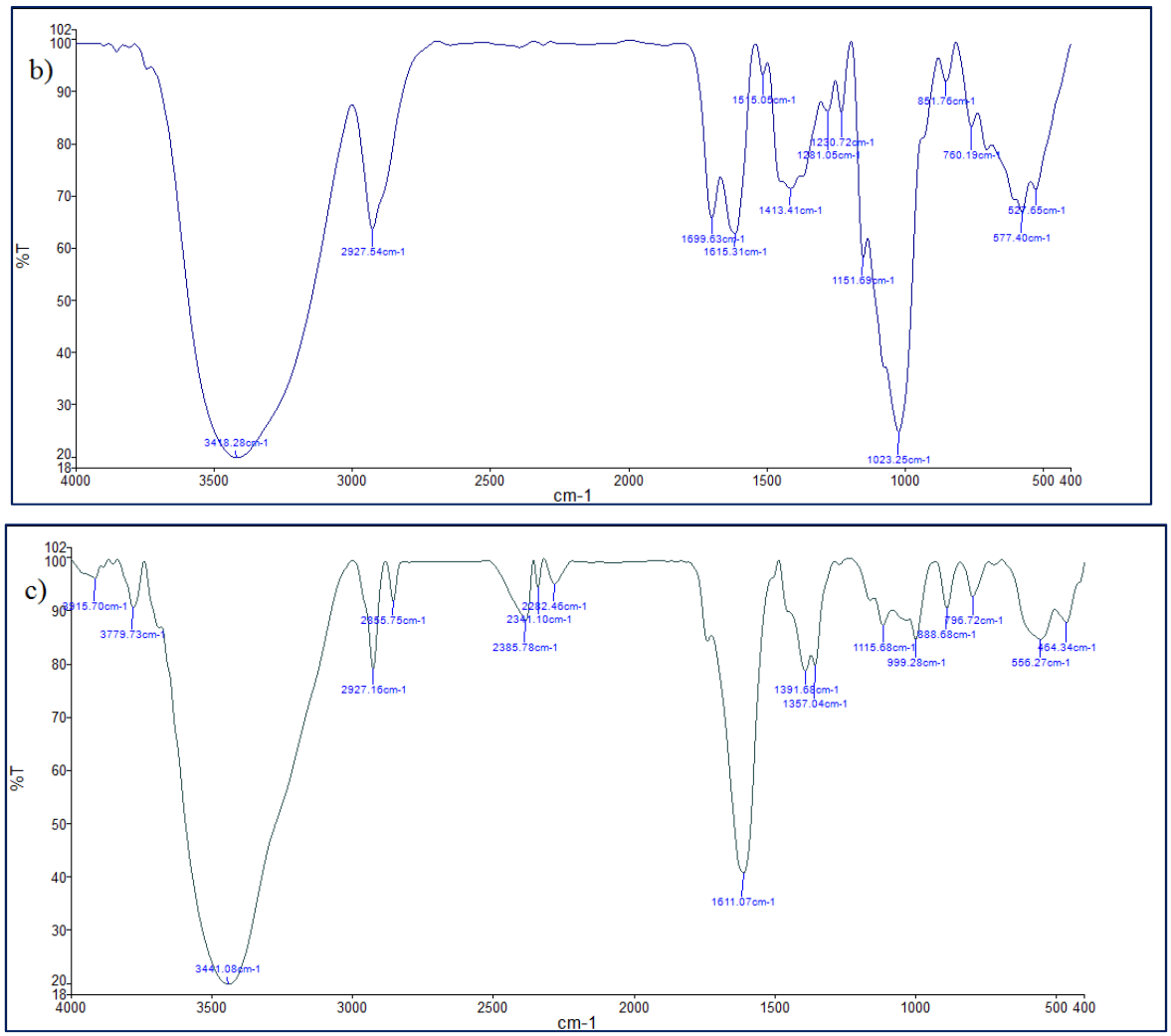
یافته‌های پژوهش

بررسی گروه‌های عاملی، ساختار کریستالی و پتانسیل زتا:

نتایج آزمایش FT-IR روی سافرانال، نانوذرهٔ Fe_3O_4 و نانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal به‌منظور بررسی تفاوت‌های گروه‌های عاملی سطحی آنان انجام گردید. بر اساس نتایج، در طیف مربوط به سافرانال پیک‌هایی در طول‌موج 803 cm-1، 1000 و ۱۳۹۳ مشاهده شد که با پیوندهای C-H، C-O و C-C مرتبط است؛ همچنین پیک‌های جذبی در 1612 cm-1 و ۲۴۲۳ مربوط به پیوندهای C=C و C-O هستند. پیک‌هایی نیز مرتبط با پیوند O-H در طول‌موج‌های 2935 cm-1 و ۳۴۰۶ نانومتر مشاهده گردید. در طیف مربوط به نانوذرهٔ Fe_3O_4، پیک‌های مرتبط با پیوند Fe-O مربوط به یون‌های Fe2+ و Fe3+ در فازهای هشت‌وجهی و Fe3+ در فاز چهاروجهی به‌ترتیب در طول‌موج‌های cm-1420، 580 و ۶۲۴ مشاهده شد (۱۱). بر اساس طیف نانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal، پیک‌های مرتبط با هر دو ماده در محصول نهایی دیده می‌شود که تأییدکنندهٔ سنتز مناسب نانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal است (شکل شمارهٔ ۱).



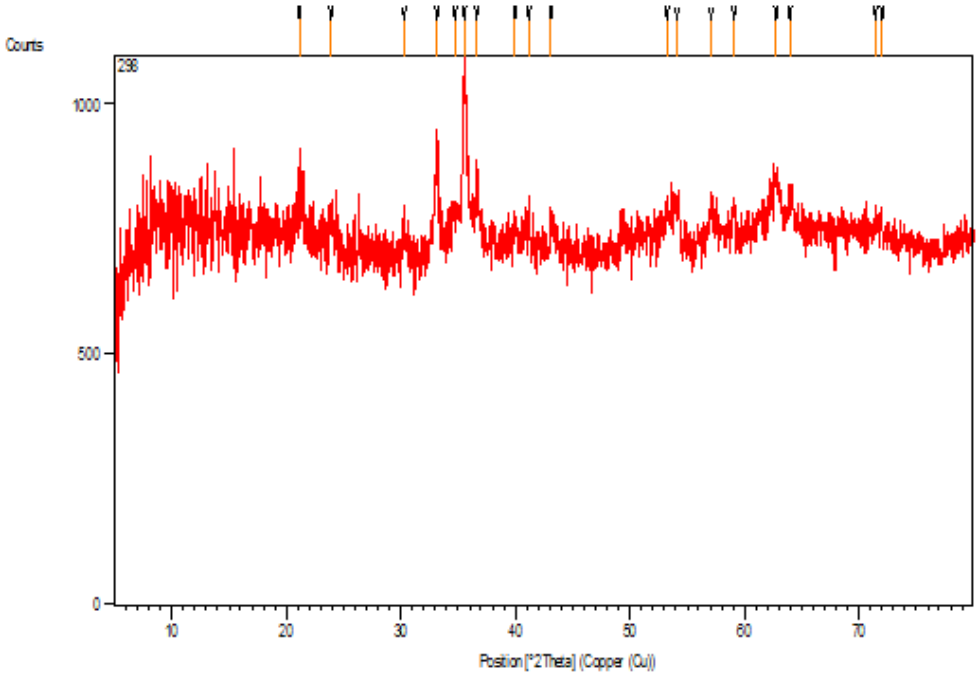
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]



شکل شماره ۱. بررسی گروه‌های عاملی؛ a. نانوذرهٔ Fe_3O_4، b. سافرانال و c. نانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal با آزمایش FT-IR

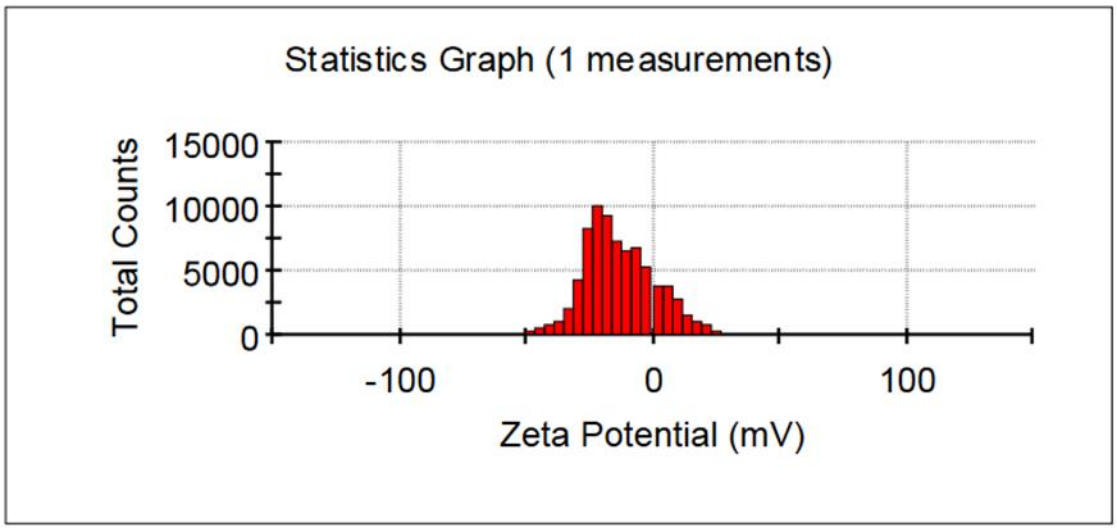
بر اساس طیف XRD نانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal، پیک‌های قابل‌مشاهده در ۳۰/۲، ۳۳/۴ و ۴۱/۱۲ درجه با نانوذرهٔ اکسید آهن مرتبط هستند که با JCPDS شمارهٔ ۰۳-۰۸۶۳ منطبق است (۱۴)؛ همچنین پیک‌های مشاهده‌شده در ۲۱/۱۵ و ۳۱/۵۶ درجه با سافرانال مرتبط هستند و پیک مرتبط با گلوکز در ۳۶/۶۲ درجه مشاهده می‌شود (۱۵) (شکل شمارهٔ ۲).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]



شکل شماره ۲. طیف‌سنجی پراش اشعهٔ X نانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal

همچنین اندازه‌گیری پتانسیل زتای نانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal نشان داد که بار سطحی ذرات mV 13- است که تأمین‌کنندهٔ نیروی دافعهٔ میان ذرات است (شکل شمارهٔ ۳).

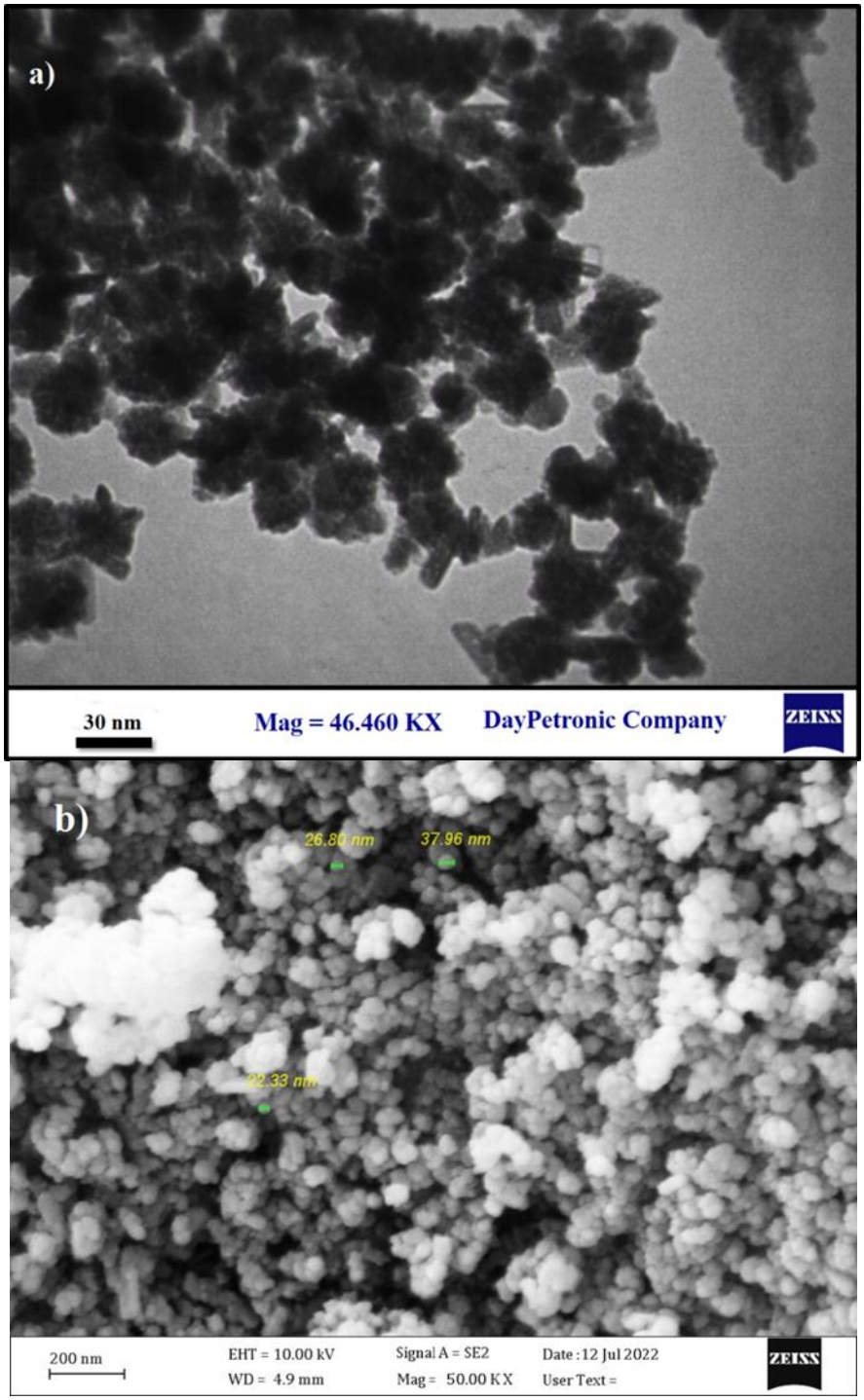


شکل شماره ۳. پتانسیل زتای نانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal

ریخت‌شناسی، اندازه و عناصر ساختاری:

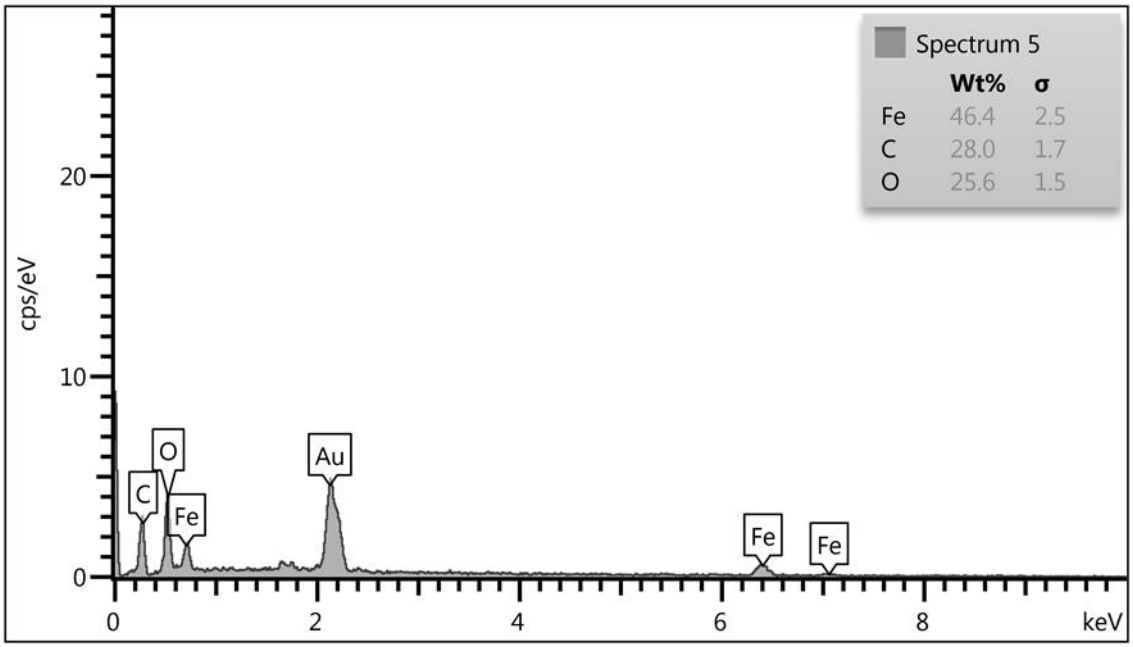
تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی نشان داد که نانوذرات Fe_3O_4@Glu-Safranal کروی و اندازهٔ آن‌ها در محدودهٔ ۴۹-۱۷ نانومتر است؛ همچنین میزان به‌هم‌چسبندگی ذرات در حد متوسط بود (شکل شمارهٔ ۴). عناصر تشکیل‌دهندهٔ نانوذرات نیز شامل Fe، C و O بود که نشان‌دهندهٔ خلوص ذرات سنتزشده است (شکل شمارهٔ ۵).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]



شکل شماره ٤. تصاویر میکروسکوپ الکترونی گذاره (a) و نگاره (b)

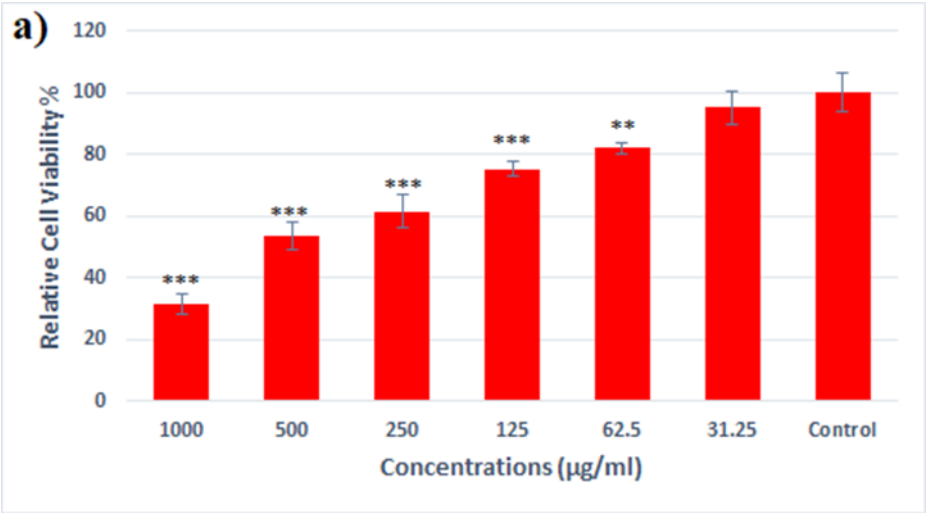
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]



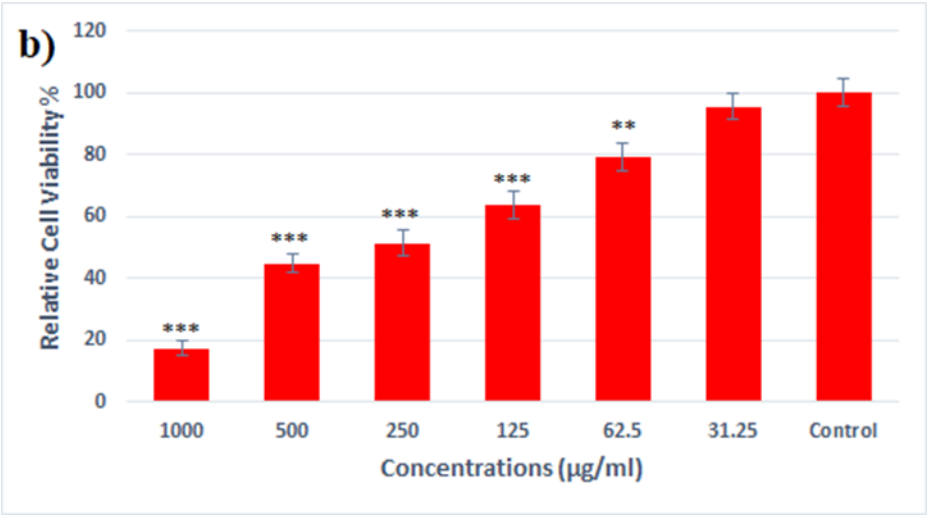
شکل شماره ۵. آنالیز عنصری نانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal

زنده‌مانی سلول‌ها:

به‌منظور بررسی اثر نانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal بر زنده‌مانی سلول‌های ردهٔ سرطان کبد و سلول‌های غیرسرطانی از آزمون MTT استفاده شد. نتایج این مطالعه نشان داد، با وجود اینکه نانوذرهٔ سنتزشده آثار مهاری بر هر دو ردهٔ سلولی مطالعه‌شده داشت، اما آثار مهارکنندگی آن علیه سلول‌های سرطانی به میزان چشمگیری بیشتر از سلول‌های طبیعی بود. تیمار هر دو ردهٔ سلولی با غلظت‌های بزرگ‌تر از ۶۲/۵ میکروگرم/میلی‌لیتر سبب کاهش معنی‌دار هر دو نوع سلول شد، اگرچه میزان غلظت نیمه‌مهاری نانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal برای سلول‌های سرطان کبد و سلول‌های طبیعی به‌ترتیب ۲۷۷ و ۴۵۸ میکروگرم/میلی‌لیتر بود. شکل شمارهٔ ۶ درصد زنده‌مانی سلول‌های تیمارشده با غلظت‌های مختلف نانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal را نمایش می‌دهد.



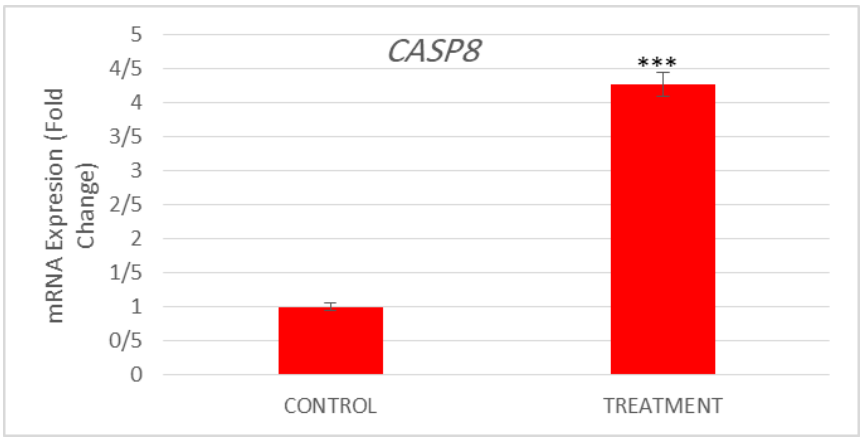
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

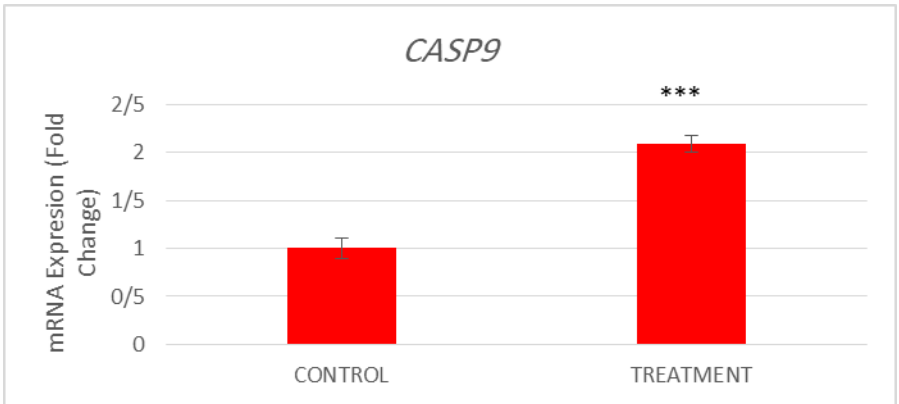


شکل شماره ٦. اثر غلظت‌های مختلف نانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal بر زنده‌مانی سلول‌های طبیعی HEK293 (a) و سلول‌های ردهٔ سرطان کبد (HepG2) (b). ستاره‌ها (*) تفاوت معنی‌داری را با گروه کنترل نشان می‌دهند (=***P<0.001، =**P<0.01، =*P<0.05).

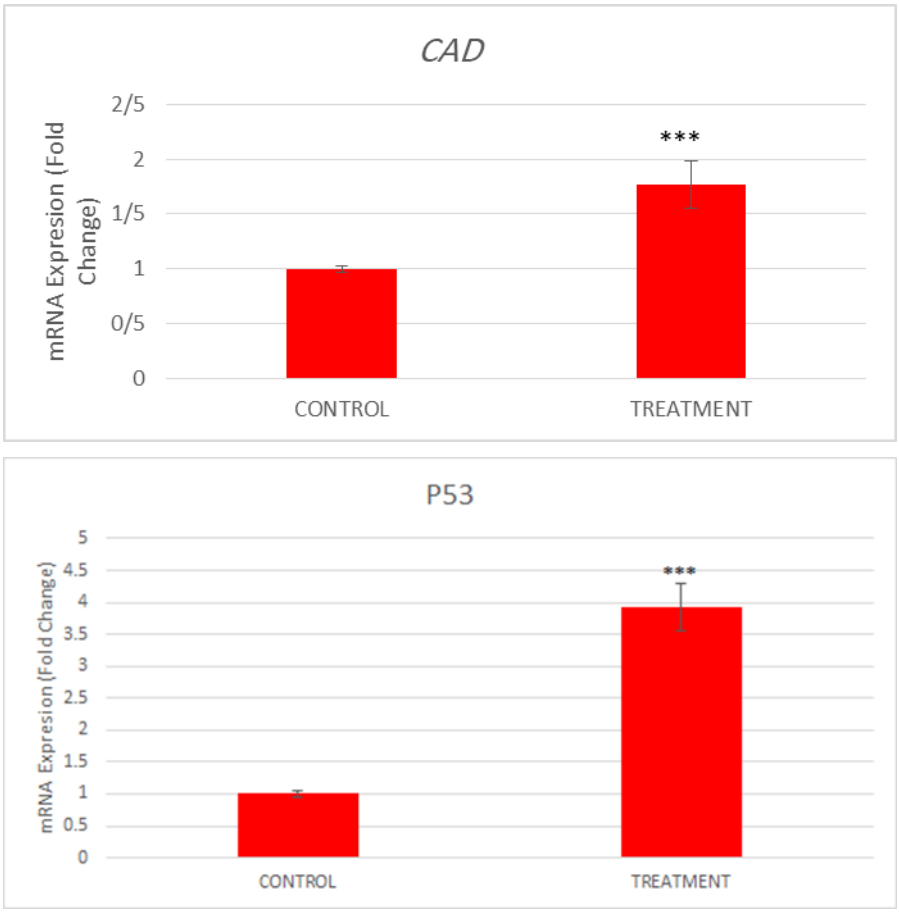
بررسی بیان ژن‌های مسیر آپوپتوز:

به‌منظور بررسی بیان نسبی ژن‌های مسیر آپوپتوز شامل دی ان آز فعال‌شونده توسط کاسپاز، p53، کاسپاز ۸ و کاسپاز ۹، از آزمایش ریل‌تایم پی‌سی‌آر استفاده شد. بر اساس نتایج، تیمار سلول‌های ردهٔ سرطان کبد با نانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal سبب افزایش بیان معنی‌دار همهٔ ژن‌های مطالعه‌شده نسبت به تیمار شاهد گردید؛ به این معنی که میزان بیان ژن‌های کاسپاز ۸ و کاسپاز ۹ پس از تیمار سلول‌ها با نانوذره به‌ترتیب به میزان ۴/۲۷ و ۲/۰۹ برابر افزایش یافت؛ همچنین ژن‌های p53 و دی ان آز فعال‌شونده توسط کاسپاز پس از تیمار با نانوذره به میزان ۳/۹۲ و ۱/۷۶ برابر افزایش بیان داشتند. نتایج در شکل شمارهٔ ۷ نمایش داده‌شده است.





[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]



شکل شماره ۷. بیان ژن‌های مسیر آپوپتوز در سلول‌های سرطان کبد تیمارشده با نانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal. همهٔ ژن‌ها نسبت به شاهد افزایش بیان معنی‌داری دارند. ستاره‌ها (*) تفاوت معنی‌داری را با گروه کنترل نشان می‌دهند (=***P<0.001، =**P<0.01، =*P<0.05).

بحث و نتیجه‌گیری

استفاده از نانوذرات مهندسی‌شدهٔ مغناطیسی که گروه‌های دارویی مؤثر داشته باشند، می‌تواند سبب بهبود اثربخشی و کاهش آثار سمیتی این داروها شود و نویدبخش درمان‌های مؤثرتر علیه انواع سرطان باشد (۱۶). از سویی، بسیاری از ترکیبات ضدسرطانی با ایجاد اختلال در روند طبیعی سلول‌ها، سبب القای آپوپتوز و مرگ در سلول‌ها می‌گردند؛ ازاین‌رو، ارزیابی شاخص‌های دخیل در آپوپتوز می‌تواند تحلیل مناسبی دربارهٔ سازوکارهای ضدسرطانی داروها در اختیار قرار دهد. بر اساس این، پژوهش حاضر به سنتز نانوذرهٔ اکسید آهن پوشش‌دهی‌شده با گلوکز و کنژوگه با سافرانال و ارزیابی اثر آن بر میزان زنده‌مانی سلول‌های ردهٔ سرطان کبد و میزان بیان برخی از ژن‌های دخیل در مسیر آپوپتوز پرداخته است.

بررسی‌های فیزیکی و شیمیایی نشان داد که نانوذرات ساخته‌شده در این مطالعه شکل نسبتاً کروی و با اندازه‌های کمتر از ۱۰۰ نانومتر دارند. شکل و اندازهٔ نانوذرات دو عامل مهم اثرگذار در میزان نفوذ و توزیع درون‌بافتی نانوذرات هستند که می‌توانند روی اثربخشی آنان تأثیرگذار باشند. ذرات کروی و کوچک راحت‌تر خود را به بافت‌های هدف می‌رسانند و آثار مدنظر را اعمال می‌کنند؛ همچنین وجود بار منفی سطحی روی نانوذرات فراهم‌آورندهٔ نیروی دافعهٔ میان آنان به‌منظور جلوگیری از تجمع و به‌هم‌پیوستگی آنان است.

در این مطالعه مشاهده شد که نانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal در یک الگوی وابسته به غلظت، آثار مهاری بر زنده‌مانی سلول‌های مطالعه‌شده شامل سلول‌های ردهٔ سرطان کبد و سلول‌های طبیعی فیبروبلاست انسانی داشت، اگرچه نتایج نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار در میزان اثر مهارکنندگی نانوذره بر سلول‌های سرطانی در مقایسه با سلول‌های طبیعی بود؛ به‌بیان‌دیگر، نانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal اثر

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

ضدسرطانی بیشتری بر سلول‌های سرطانی نسبت به سلول‌های طبیعی داشت. آثار سایتوتوکسیک نانوذرهٔ سنتزشده را می‌توان به‌طور عمده با وجود مولکول سافرانال در فرمولاسیون آن مرتبط دانست. در مطالعه‌ای نشان دادند که سافرانال آثار ضدسرطانی خود را از طریق تخریب رشته‌های DNA و به دنبال آن، جلوگیری از تکثیر و ترمیم قطعات DNA اعمال می‌کند؛ همچنین گزارش شد که سافرانال قادر به برهم‌کنش با پروتئین‌های توبولین است و از این طریق، مانع به‌هم‌پیوستگی آن‌ها و تشکیل رشته‌های دوک تقسیم می‌شود (۸). علاوه بر این، مطالعات گذشته نقش سافرانال را در فعال‌سازی مسیرهای آپوپتوزی گزارش کرده‌اند که می‌تواند سبب مهار زنده‌مانی سلول‌های سرطانی گردد (۹)؛ همچنین نانوذرات اکسید آهن علاوه ویژگی مغناطیسی که دارند، ممکن است در مرگ سلول‌های سرطانی نیز نقش داشته باشند. مطالعات پیشین گزارش کرده‌اند که نانوذرات اکسید آهن می‌توانند سبب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن شوند و به دنبال آسیب رساندن به بخش‌های حیاتی سلول، سبب توقف چرخهٔ سلولی و القای آپوپتوز گردند (۱۸، ۱۷).

بررسی میزان بیان ژن‌های مرتبط با مسیر آپوپتوز در سلول‌های ردهٔ سرطان کبد تیمارشده با Fe_3O_4@Glu-Safranal نشان‌دهندهٔ افزایش معنی‌دار همهٔ ژن‌های مطالعه‌شده بود. نتایج ما نشان داد که میزان بیان ژن‌های کاسپازهای ۸ و ۹ که رمزکنندهٔ کاسپازهای ۸ و ۹ هستند، در سلول‌های تیمارشده به‌ترتیب ۴/۲۷ و ۲/۰۹ برابر افزایش داشتند. کاسپازهای ۸ و ۹ آغازگرهای فعالیت آبشار کاسپازی به‌ترتیب در پاسخ به فعال شدن مسیر آپوپتوز گیرنده‌های مرگ (مسیر بیرونی) و آپوپتوز میتوکندریایی (مسیر درونی) هستند. فعال شدن این پروتئین‌ها سبب فعال کردن کاسپازهای عملگر همچون کاسپاز ۳ و ۶ می‌شود و با برش‌های پروتئولیتیک باعث تخریب پروتئین‌های سلول و درنتیجه، مرگ سلولی می‌گردد (۲۰، ۱۹). با توجه به افزایش بیان چشمگیر در ژن‌های هردو کاسپاز، به‌نظر می‌رسد که نانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal از طریق تخریب اکسیداتیو اجزای سلولی و مهار تکثیر اسید نوکلئیک می‌تواند سبب فعال‌سازی هردو مسیر آپوپتوز در سلول‌های ردهٔ سرطان کبد شود، اگرچه افزایش بیان قوی‌تر ژن کاسپاز ۸ ممکن است نشان‌دهندهٔ نقش پررنگ‌تر سیگنال‌های مسیر بیرونی آپوپتوز در این فرایند باشد. گفتنی است، چنین فرضیه‌ای نیازمند مطالعات تکمیلی است.

آنزیم DNase شونده با دی ان آز فعال‌شونده توسط کاسپاز یک آنزیم با قابلیت تجزیهٔ DNA است که در گام‌های نهایی آپوپتوز، جایی که کروموزوم سلول می‌بایست تجزیه شود، دخالت دارد. این آنزیم توسط ژن دی ان آز فعال‌شونده توسط کاسپاز بیان می‌گردد که یک ژن القاپذیر در پاسخ به محرک‌های مسیر آپوپتوز است. در شرایط رشد طبیعی سلول، این ژن بیان بسیار کمی دارد که این پدیده به علت وجود اثر مهارکنندگی پروتئینICAD بر بیان این ژن است. طی فرایند آپوپتوز و به دنبال فعال شدن آبشار کاسپازی، پروتئین مهارکننده در اثر فعالیت پروتئولیتیک کاسپاز ۳ تجزیه می‌شود و این رویداد سبب القای بیان ژن دی ان آز فعال‌شونده توسط کاسپاز در سلول می‌گردد (۲۱). نتایج این مطالعه نشان داد که میزان بیان ژن دی ان آز فعال‌شونده توسط کاسپاز در سلول‌های تیمارشده با نانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal به میزان ۱/۷۶ برابر افزایش بیان داشت که تأییدکنندهٔ فعال شدن مسیر آپوپتوز در سلول‌های مطالعه‌شده است. همسو با نتایج این مطالعه، دلالت و همکاران نشان دادند که بیان این ژن در سلول‌های سرطان سینهٔ تیمارشده با نانوذرهٔ نقره افزایش معنی‌دار داشت (۲۲).

پروتئین P53 را می‌توان مهم‌ترین عامل در تنظیم فرایند القا یا مهار آپوپتوز در نظر گرفت. این پروتئین مهارکنندهٔ توموری مهمی در سلول‌های یوکاریوتی است که میزان بیان آن معمولاً در پاسخ به آسیب‌های سلولی به‌ویژه آسیب به DNA و یا سایر استرس‌های سلولی افزایش می‌یابد که نتیجهٔ آن، توقف چرخهٔ سلولی و شروع آپوپتوز است. درواقع، این پروتئین یک عامل رونویسی است که از طریق افزایش بیان ژن‌های محرک آپوپتوز همچون Bax و Bak و کاهش بیان ژن‌های ضدآپوپتوز همچون Bcl-2، سبب القای فعالیت سیگنال‌های آپوپتوز و افزایش فعالیت کاسپازی

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

می‌شود (۲۳). با توجه به افزایش بیان ۳/۹۲ برابری بیان ژن p53 در سلول‌های تیمارشده با Fe_3O_4@Glu-Safranal در مقایسه با سلول‌های شاهد، آسیب‌های وارده ناشی از آثار مخرب مستقیم سافرانال بر فرایندهای سلولی و همچنین ایجاد استرس اکسیداتیو در سلول‌های سرطانی را می‌توان به‌عنوان عوامل فعال‌سازی این پروتئین در نظر گرفت که به دنبال آن، سبب القای فعالیت کاسپازها به‌منظور تخریب پروتئین‌های سلولی و همچنین آنزیم‌های نوکلئازی همچون دی ان آز فعال‌شونده توسط کاسپاز، برای تجزیهٔ کروموزوم سلول و درنهایت مرگ سلولی می‌شود.

این مطالعه با هدف بررسی اثر نانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal بر زنده‌مانی سلولی و بیان ژن‌های آپوپتوتیک در سلول‌های ردهٔ سرطان کبد انجام گردید. نتایج نشان داد که نانوذرهٔ سنتزشده سبب کاهش چشمگیر زنده‌مانی سلول‌های سرطانی می‌شود و با توجه به افزایش بیان معنی‌دار ژن‌های CASP8، CASP9، CAD و p53 می‌توان نتیجه‌گیری کرد که فعال شدن مسیرهای آپوپتوز محتمل‌ترین سازوکار اثر ضدسرطانی نانوذرهٔ Fe_3O_4@Glu-Safranal در سلول‌های مطالعه‌شده است.

سپاس‌گزاری

نویسندگان از پرسنل آزمایشگاه زیست شناسی دانشگاه آزاد واحد رشت تشکر می نمایند.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

حمایت مالی

تحقیق حاضر بدون حمایت مالی از طرف هرگونه مؤسسه یا سازمانی و تنها به وسیله هزینه‌های شخصی نویسنده مسئول صورت گرفته است.

مشارکت نویسندگان

نویسندگاه دارای سهم مساوی در مقاله می باشند.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

References

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin 2021; 71:209-49. doi:10.3322/caac.21660.
2. Chi X, Liu K, Luo X, Yin Z, Lin H, Gao J. Recent advances of nanomedicines for liver cancer therapy. J Mater Chem B 2020;8:3747-71. doi:10.1039/C9TB02871D.
3. Gavas S, Quazi S, Karpiński TM. Nanoparticles for cancer therapy: current progress and challenges. Nanoscale Res Lett 2021; 16:173. doi:10.1186/s11671-021-03628-6.
4. Hernández-Hernández AA, Aguirre-Álvarez G, Cariño-Cortés R, Mendoza-Huizar LH, Jiménez-Alvarado R. Iron oxide nanoparticles: synthesis, functionalization, and applications in diagnosis and treatment of cancer. Chem Pap 2020; 74:3809-24. doi:10.1007/s11696-020-01229-8
5. Arruebo M, Fernández-Pacheco R, Ibarra MR, Santamaría J. Magnetic nanoparticles for drug delivery. Nano Today 2007; 2:22-32. doi:10.1016/S1748-0132(07)70084-1.
6. Khan MI, Mohammad A, Patil G, Naqvi SA, Chauhan LK, Ahmad I. Induction of ROS, mitochondrial damage and autophagy in lung epithelial cancer cells by iron oxide nanoparticles. Biomaterials 2012; 33:1477-88. doi:10.1016/j.biomaterials.2011.10.080.
7. Ahamed M, Alhadlaq HA, Khan MM, Akhtar MJ. Selective killing of cancer cells by iron oxide nanoparticles mediated through reactive oxygen species via p53 pathway. J Nanoparticle Res 2013; 15:1-1. doi:10.1007/s11051-012-1225-6.
8. Naghshineh A, Dadras A, Ghalandari B, Riazi GH, Modaresi SM, Afrasiabi A, et al. Safranal as a novel anti-tubulin binding agent with potential use in cancer therapy: An in vitro study. Chem Biol Interact 2015; 238:151-60. doi:10.1016/j.cbi.2015.06.023.
9. Al-Hrout AA, Chaiboonchoe A, Khraiwesh B, Murali C, Baig B, El-Awady R, et al. Safranal induces DNA double-strand breakage and ER-stress-mediated cell death in hepatocellular carcinoma cells. Sci Rep 2018; 8:16951. doi:10.1038/s41598-018-34855-0.
10. Shokrollahi F, Salehzadeh A, Kafilzadeh F, Zaefizadeh M. Cytotoxic effect of iron oxide nanoparticles functionalized with glucose and conjugated with Coumarin (Fe_3O_4@ Glu-Coumarin NPs) on liver cancer, HepG2, cell line. Inorg Chem Commun 2023; 157:111380. doi:10.1016/j.inoche.2023.111380.
11. Mikaeili Ghezeljeh S, Salehzadeh A, Ataei-e Jaliseh S. Iron oxide nanoparticles coated with Glucose and conjugated with Safranal (Fe_3O_4@ Glu-Safranal NPs) inducing apoptosis in liver cancer cell line (HepG2). BMC Chem 2024;18:33. doi:10.1186/s13065-024-01142-1.
12. Sadat Shandiz SA, Montazeri A, Abdolhosseini M, Hadad Shahrestani S, Hedayati M, Moradi-Shoeili Z, et al. Functionalization of Ag nanoparticles by glutamic acid and conjugation of Ag@ Glu by thiosemicarbazide enhances the apoptosis of human breast cancer MCF-7 cells. J Clust Sci 2018;29:1107-14. doi:10.1007/s10876-018-1424-0.
13. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT–PCR. Nucleic Acids Res 2001; 29:e45-. doi:10.1093/nar/29.9.e45.
14. Emami N, Farhadian M, Solaimany Nazar AR, Tangestaninejad S. Adsorption of cefixime and lamotrigine on HKUST-1/ZIF-8 nanocomposite: Isotherms, kinetics models and mechanism. Int J Environ Sci Technol 2023; 20:1645-72. doi:10.1007/s13762-022-04679-7.
15. Abbaszadegan S, Al-Marzouqi AH, Salem AA, Amin A. Physicochemical characterizations of safranal-β-cyclodextrin inclusion complexes prepared by supercritical carbon dioxide and conventional methods. J Pharm Biomed Anal 2015; 83:215-26. doi:10.1007/s10847-015-0555-2.
16. Dobson J. Magnetic nanoparticles for drug delivery. Drug Dev Res 2006; 67:55-60. doi:10.1002/ddr.20067.
17. Huang G, Chen H, Dong Y, Luo X, Yu H, Moore Z, et al. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: amplifying ROS stress to improve anticancer drug efficacy. Theranostics 2013; 3:116. doi:10.7150/thno.5411.
18. Yusefi M, Shameli K, Su Yee O, Teow SY, Hedayatnasab Z, Jahangirian H, et al. Green synthesis of Fe_3O_4 nanoparticles stabilized by a Garcinia mangostana fruit peel extract for hyperthermia and anticancer activities. Int J Nanomedicine 2021: 2515-32. doi:10.2147/IJN.S284134.
19. Riedl SJ, Shi Y. Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis. Nat Rev Mol Cell Biol 2004; 5:897-907. doi:10.1038/nrm1496.
20. Fan TJ, Han LH, Cong RS, Liang J. Caspase family proteases and apoptosis. Acta Biochim Biophys Sin 2005; 37:719-27. doi:10.1111/j.1745-7270.2005.00108.x.
21. Yuste VJ, Sánchez-López I, Solé C, Moubarak RS, Bayascas JR, Dolcet X, et al. The contribution of apoptosis-inducing factor,

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

caspase-activated DNase, and inhibitor of caspase-activated DNase to the nuclear phenotype and DNA degradation during apoptosis. J Biol Chem 2005; 280:35670-83. doi:10.1074/jbc.M504015200.
22. Delalat R, Sadat Shandiz SA, Pakpour B. Antineoplastic effectiveness of silver nanoparticles synthesized from Onopordum acanthium L. extract (AgNPs-OAL) toward MDA-MB231 breast cancer cells. Mol Biol Rep 2022:1-8. doi:10.1007/s11033-021-06936-3.
23. Fridman JS, Lowe SW. Control of apoptosis by p53. Oncogene 2003; 22:9030-40. doi: 10.1038/sj.onc.1207116.
24. Bigdeli R, Shahnazari M, Panahnejad E, Cohan RA, Dashbolaghi A, Asgary V. Cytotoxic and apoptotic properties of silver chloride nanoparticles synthesized using Escherichia coli cell-free supernatant on human breast cancer MCF 7 cell line. Artif Cells Nanomed Biotechnol 2019;47:1603-9. doi:10.1080/21691401.2019.1604533.
25. Zarrinpour V, Mohammad Amoie A, Sadat Shandiz SA, Salehzadeh A. Effect of ZnFe2O4@ Ag Nanocomposite Biosynthesized by Chlorella vulgaris on the Expression of P53, Caspase 9, and CAD Genes in Breast Cancer Cell Line. Anim Biol J 2023;1:137-148.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]