Journal of Ilam University of Medical Sciences

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

The effect of copper oxide nanoparticle conjugated with lapatinib on breast cancer cell line and evaluating the effect of this nanoparticle on caspase 8 gene expression

Masoumeh Valizadeh Talarposhti [1], Ali Salehzadeh [1*], Amir Jalali [2]

[1] Dept of Biology, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran
[2] Dept of Biology, Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran

Article Info

Article type:
Research article

Article History:
Received: Aug. 26, 2024
Received in revised form: Jan. 04, 2025
Accepted: Jan. 18, 2025
Published Online: Apr. 16, 2025

**** 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: Breast cancer is a significant global cause of cancer-related mortality, highlighting the urgent need for new drugs to combat this prevalent disease. This study was designed to investigate the anticancer effect of copper oxide nanoparticles conjugated with lapatinib and its effect on the expression of the caspase-8 gene in a breast cancer cell line.

Materials & Methods: Copper oxide nanoparticles were synthesized from a $CuCl_2$ solution, treated with D-glucose, and then linked to lapatinib. The physicochemical properties of the nanoparticles were analyzed using FT-IR, XRD, EDS, DLS, zeta potential measurement, and electron microscope imaging. The effect of the nanoparticles on the viability of breast cancer (MDA-MB-231) and normal (MRC-5) cells was evaluated using the MTT test, while the expression of the caspase-8 gene was measured via real-time PCR. Statistical differences were analyzed using one-way ANOVA in SPSS V.22, with a p-value less than 0.05 considered statistically significant.

Results: The study found that copper oxide nanoparticles conjugated with lapatinib had a spherical morphology, a surface charge of -14 mV, and a particle size of 426.3 nm in aqueous medium. These nanoparticles had concentration-dependent inhibitory effects on cancer and normal cell lines, with a 50% inhibitory concentration of 75 and 120 µg/ml, respectively, and a 3.24-fold increase in caspase-8 gene expression.

Conclusion: Copper oxide nanoparticles linked with lapatinib were more effective at stopping cancer cells than normal cells, and by boosting the levels of caspase-8, they trigger the external pathway of cell death in cancer cells.

Keywords: Apoptosis, Breast Cancer, Copper Oxide Nanoparticle, Lapatinib

How to cite this paper: Valizadeh Talarposhti M, Salehzadeh A, Jalali A. The effect of copper oxide nanoparticle conjugated with lapatinib on breast cancer cell line and evaluating the effect of this nanoparticle on caspase 8 gene expression. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2025;33(1):55-70.

Introduction

Breast cancer is a leading cancer type in women globally, with over 26.2 million new cases annually and nearly 700,000 deaths (1). Its diverse phenotypes complicate treatment, especially for drug-resistant and metastatic forms (1). Surgery is the primary intervention, but anticancer chemotherapy is crucial for eliminating cancer cells and microscopic tumors (2). Research focuses on developing effective drugs and targeted delivery systems to enhance efficacy and reduce side effects (3). Nanotechnology offers promise in cancer treatment, utilizing nanoparticles smaller than 100 nm for improved drug delivery and stability (3). Copper oxide (CuO) nanoparticles, in particular, show potential due to their antibacterial, antifungal, antioxidant, and anticancer properties (4). Copper, an essential trace element, supports enzyme functions and immune responses, which can inhibit cancer cells by disrupting the cell cycle and inducing apoptosis, partly through increased oxygen free radical production (5). Additionally, they serve as drug carriers, improving drug stability and

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

© The Author(s)

targeted delivery (4, 5). These advancements highlight the growing role of nanodrugs in cancer therapy (5). This study was designed to investigate the anticancer effect of copper oxide nanoparticles conjugated with lapatinib and its effect on the expression of the caspase-8 gene in a breast cancer cell line.

Methods

In this study, copper oxide nanoparticles coated with d-glucose and loaded with the drug lapatinib were synthesized, and their physicochemical and biological properties were investigated. For synthesis, first, a copper chloride solution was prepared, its pH was adjusted, and it was stirred at high temperature to form Copper oxide nanoparticles. Then, these nanoparticles were coated with d-glucose and loaded with lapatinib. Separation and drying were performed in different stages using a centrifuge, oven, and freeze dryer. The properties of the nanoparticles were analyzed using electron microscopes (TEM and SEM), DLS testing for particle size, a zeta sizer for surface charge, EDS spectroscopy for elemental analysis, FT-IR for surface functional group identification, and XRD for crystal structure investigation. The study looked at how nanoparticles affect the growth of breast cancer cells (MDA-MB-231) and normal cells (HDF) using an MTT assay. Cells were incubated in the presence of different concentrations of nanoparticles, and their viability was measured by optical absorption assay at 570 nm. Also, the expression of the caspase-8 gene as one of the apoptosis genes was investigated using real-time PCR. RNA extracted from treated cells was converted to cDNA and compared with the reference gene GAPDH. Statistical differences were analyzed using one-way ANOVA in SPSS V.22, with a p-value less than 0.05 considered statistically significant.

Results

Copper oxide nanoparticles conjugated with lapatinib had a spherical morphology with a size of 17–55 nm and no elemental impurities. The surface charge of the nanoparticle was -14 mV, and the particle size in aqueous medium was 426.3 nm. Copper oxide nanoparticles conjugated with lapatinib had concentration-dependent inhibitory effects on the studied cells, and the 50% inhibitory concentration in cancer and normal cell lines was 75 and 120 µg/ml, respectively. The expression level of the caspase-8 gene in cancer cells treated with the nanoparticles increased 3.24-fold.

Conclusion

Copper oxide nanoparticles linked with lapatinib were more effective at stopping cancer cells than normal cells, and by boosting the levels of caspase-8, they trigger the external pathway of cell death in cancer cells.

Authors' Contribution

Conceptualization, Methodology: Validation, Formal Analysis, Software, Investigation, Resources, Data

Curation, Writing– Original Draft Preparation, Writing– Review & Editing, Visualization, Supervision,

Project Administration: MV, AS, AJ.

Ethical Statement

An ethical code was unnecessary since no human-animal samples were utilized. The authors adhered to ethical standards by avoiding data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Funding

This research has no financial support from any institution.

Acknowledgment

The authors thank the staff of the Biology Laboratory of Islamic Azad University, Rasht Branch.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام

JIUMS

P-ISSN: ۱۵۶۳-۴۷۲۸

E-ISSN: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

اثر نانوذرهٔ اکسید مس کنژوگه با داروی لاپاتینیب روی ردهٔ سلولی سرطان پستان و ارزیابی اثر این نانوذره روی بیان ژن کاسپاز-۸

معصومه ولی‌زاده تالار پشتی [۱]، علی صالح‌زاده [۱*]، امیر جلالی [۲]

[۱] گروه زیست‌شناسی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

[۲] گروه زیست‌شناسی، دانشکدهٔ علوم، دانشگاه اراک، اراک، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۰۵

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۱۰/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۲۹

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۱/۲۷

نویسنده مسئول:
علی صالح‌زاده
گروه زیست‌شناسی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

Email:
a.salehzadeh@iau.ac.ir

چکیده

مقدمه: سرطان پستان مهم‌ترین و فراگیرترین عامل مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در جمعیت زنان دنیا به‌شمار می‌آید. میزان بالای مرگ‌ومیر ناشی از این بیماری ضرورت دستیابی به داروهای جدید علیه آن را نمایان می‌کند. در این مطالعه اثر ضدسرطانی نانوذرهٔ اکسید مس کنژوگه‌شده با لاپاتینیب روی سلول‌های ردهٔ سرطان پستان و اثر آن بر بیان ژن کاسپاز-۸ بررسی شد.

مواد و روش‌ها: نانوذرهٔ اکسید مس با استفاده از محلول کلرید مس سنتز گردید و با استفاده از محلول D-گلوکز عامل‌دار شد و سپس با داروی لاپاتینیب کنژوگه گردید. ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی نانوذره با استفاده از آزمایش‌های FT-IR، XRD، EDS، DLS، سنجش پتانسیل زتا و تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی بررسی شد. اثر نانوذره بر زیستایی سلول‌های ردهٔ سرطان پستان (MDA-MB-231) و سلول‌های طبیعی (HDF) با آزمایش MTT ارزیابی گردید و از آزمایش Real-Time PCR برای سنجش بیان ژن کاسپاز-۸ استفاده شد. برای بررسی تفاوت‌های آماری از آنالیز واریانس یک‌طرفه با استفاده از نرم‌افزار SPSS vol.22 استفاده گردید و مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌های پژوهش: نانوذرهٔ اکسید مس کنژوگه‌شده با لاپاتینیب با مورفولوژی کروی و اندازهٔ ۵۵-۱۷ نانومتر و بدون ناخالصی عنصری بود. بار سطحی نانوذره ۱۴- میلی‌ولت و اندازهٔ آن در محیط آبی ۴۲۶/۳ نانومتر بود. نانوذرهٔ اکسید مس کنژوگه‌شده با لاپاتینیب آثار مهاری وابسته به غلظت بر سلول‌های مطالعه‌شده داشت و غلظت نیمه‌مهاری آن در سلول‌های سرطانی و طبیعی به ترتیب ۷۵ و ۱۲۰ میکروگرم/میلی‌لیتر بود؛ همچنین میزان بیان ژن کاسپاز-۸ در سلول‌های سرطانی تیمار شده با نانوذره به میزان ۳/۲۴ برابر افزایش یافت.

بحث و نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که نانوذرهٔ اکسید مس کنژوگه‌شده با لاپاتینیب آثار مهاری قوی‌تری در سلول‌های سرطانی نسبت به سلول‌های طبیعی داشتند و با افزایش بیان کاسپاز-۸، باعث فعال‌سازی مسیر بیرونی مرگ سلولی در سلول‌های سرطانی می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: آپوپتوز، سرطان پستان، لاپاتینیب، نانوذرهٔ اکسید مس

استناد: ولی‌زاده تالار پشتی معصومه، صالح‌زاده علی، جلالی امیر. اثر نانوذرهٔ اکسید مس کنژوگه با داروی لاپاتینیب روی ردهٔ سلولی سرطان پستان و ارزیابی اثر این نانوذره روی بیان ژن کاسپاز-۸ *مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام*، فروردین ۱۴۰۴؛ (۱)۳۳: ۷۰-۵۵.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

CC BY NC

حق‌مؤلف © نویسندگان

مقدمه

سرطان پستان مهم‌ترین و فراوان‌ترین نوع سرطان در جمعیت زنان در همهٔ نقاط دنیا به‌شمار می‌آید. آخرین داده‌های اپیدمیولوژی نشان می‌دهد که نرخ ابتلای سالیانه این بیماری بیش از ۲/۲۶ میلیون مورد جدید در دنیا است و هر سال نزدیک به ۷۰۰ هزار نفر جان خود را در اثر این بیماری از دست می‌دهند (۱). این بیماری فنوتیپ‌های مختلف و متنوعی دارد که الگوهای رفتار تهاجمی، متاستاز و پاسخ به دارو در آنان متفاوت است؛ به همین علت، درمان این بیماری با دشواری‌های جدی مواجه است، به‌طوری‌که درمان انواع مقاوم به دارو و متاستاتیک در بسیاری از موارد غیرممکن است.

عمل جراحی با هدف حذف بافت سرطانی به‌عنوان اولین مداخلهٔ درمانی در نظر گرفته می‌شود؛ اما شیمی‌درمانی ضدسرطانی کلیدی‌ترین مرحلهٔ درمان است، فرایندی که با هدف پاک‌سازی سلول‌های سرطانی و حذف تومورهای میکروسکوپی نقش مهمی در روند درمانی بیماران دارد؛ به همین سبب، دستیابی به داروهای جدید و مؤثر علیه سرطان پستان در زمرهٔ اهداف تحقیقاتی محققان فراوانی قرار گرفته است. دستیابی به سامانه‌های دارورسانی هدفمند به‌منظور افزایش اثربخشی دارو و کاهش عوارض سمیتی یکی دیگر از اهداف مطالعاتی در حوزهٔ مبارزه با سرطان پستان است (۲). بسیاری از داروهای شیمیایی علی‌رغم اثرگذاری مناسب، به علت پایداری کم و یا آثار سمیتی ناخواسته، به مرحلهٔ کارآزمایی بالینی نمی‌رسند و نمی‌توانند استفاده شوند.

فناوری نانو مبتنی بر طراحی، سنتز و به‌کارگیری محصولاتی با اندازهٔ کمتر از ۱۰۰ نانومتر است. پزشکی تشخیصی و درمانی دورنمای امیدوارکننده‌ای را از استفاده از نانو محصولات ارائه کرده است. ذرات نانو سطح وسیع و درعین‌حال، اندازهٔ کوچک دارند. این ویژگی امکان نفوذ به بافت‌های هدف و اثربخشی بهتر در مقایسه با ذرات بزرگ‌تر را فراهم می‌کند. درعین‌حال، این ترکیبات می‌توانند به‌عنوان یک حامل برای دارورسانی و یا افزایش پایداری دارو مورد توجه قرار گیرند (۳).

مس عنصری مهم در بدن انسان، گیاهان و حیوانات است. مقدار متوسط این عنصر در بدن انسان تقریباً حدود ۱۰۰ میلی‌گرم است و مقدار مصرف روزانه این عنصر حدود ۲-۴ میلی‌گرم تا حداکثر ۱۰ میلی‌گرم است که از طریق منابع غذایی دریافت می‌شود. این عنصر کارکردهای متعددی را در انسان انجام می‌دهد؛ ازجمله به‌عنوان کوفاکتور برای بسیاری از آنزیم‌ها عمل می‌کند، در سنتز نوروپپتیدها دخالت دارد، تنظیم‌کنندهٔ مسیرهای سیگنالینگ سلولی است و همچنین در دفاع آنتی‌اکسیدانی و عملکرد سلول‌های ایمنی انسان نقش دارد (۴).

نانوذرات اکسید مس (CuO) به علت کاربردهای متنوع خود، توجه فراوانی را به خود جلب کرده‌اند. این ذرات خواص گوناگون و کاربردهای متنوعی دارند. کاربردهای کلی اکسید مس در زیست پزشکی به‌عنوان عوامل ضدباکتریایی، ضدقارچی، آنتی‌اکسیدان، دارورسانی و ضدسرطانی است (۵). نانومواد مبتنی بر مس کاندیدای مناسبی برای طراحی دستگاه‌های پزشکی، پمادها و باندژهای مقاوم در برابر میکروب‌ها هستند. علاوه بر این، مس یک عنصر کمیاب ضروری است که به‌عنوان یک کوفاکتور برای عملکرد طبیعی آنزیم‌های مسیرهای متابولیک مختلف مورد نیاز است. چنین ویژگی را می‌توان برای فرمولاسیون‌های داروهای ضدتوموری استفاده کرد (۶). به سبب اندازهٔ کوچک، آن‌ها به‌راحتی برای سلول‌هایی انسان قابل‌دسترسی هستند و می‌توانند به‌راحتی با مولکول‌های زیستی موجود در سطح سلول و درون‌سلولی تعامل داشته باشند (۳). وجود مس در برخی داروها سبب تقویت آثار ضدتوموری انتخابی است که نشان‌دهندهٔ قابلیت نانوذرات CuO به‌عنوان عوامل ضدتومور بالقوه است. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که نانوذرات اکسید مس از طریق مهار چرخهٔ سلولی و القای آپوپتوز می‌توانند سبب مهار انواع مختلف سلول‌های سرطانی شوند. مطالعات پیشین بر نقش افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در آثار ضدسرطانی نانوذرهٔ اکسید مس تأکید دارند (۵). علاوه بر آثار ضدتوموری مستقیم، نانوذرات فلزی ازجمله اکسید مس می‌توانند به‌عنوان حاملان دارویی استفاده

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

شوند. مطالعات پیشین در این زمینه با هدف افزایش پایداری مولکول‌های دارویی، بهبود نیمه‌عمر آنان در بدن و همچنین بهینه‌سازی دارورسانی به بافت‌های هدف انجام شده‌اند و نتایج امیدوارکننده‌ای نشان داده‌اند (۷). بر اساس این، نانوداروهای مبتنی بر نانوذرات فلزی کنژوگه‌شده در مطالعات درمانی روی سرطان با افزایش استقبال روبه‌رو شده‌اند. با توجه به موارد ذکرشده، این مطالعه به‌منظور سنتز نانوذرهٔ اکسید مس کنژوگه با داروی لاپاتینیب (CuO-Lapatinib) و ارزیابی آثار ضدسرطانی آن بر سلول‌های ردهٔ سرطان پستان صورت گرفت. این مطالعه بر روی دارورسانی با استفاده از نانوذرات CuO عامل‌دارسازی‌شده با گلوکز برای هدف قرار دادن سلول‌های سرطان سینه و بررسی اثر آن بر فعالیت ژن کاسپاز-۸ تمرکز دارد که از عوامل آغاز آپوپتوز سلولی است. نتایج این پژوهش می‌تواند یک مسیر امیدوارکننده برای پیشرفت‌های بالقوه در درمان سرطان را نشان دهد.

مواد و روش‌ها

مواد و دستگاه‌های استفاده‌شده: در این مطالعه از کلرید مس دو آبه (CuCl2.2H2O) ساخت Merck (آلمان) و داروی لاپاتینیب ساخت شرکت Sigma-Aldrich (آمریکا) استفاده شد. دستگاه‌های استفاده‌شده در این مطالعه شامل میکروسکوپ‌های الکترونی گذاره Zeiss-EM10C-100 KV (آلمان) و نگاره TESCAN Mira3 (جمهوری چک)، زتا سایزر (Malvern Instruments Ltd, 6.32)، اسپکتروفتومتر FT-IR ساخت شرکت Nicolet IR-100، دفراکتومتر Philips X'Pert MPD و دستگاه ترموسایکلر (LightCycler, Roche) ساخت آلمان بود؛ همچنین کیت‌های تجاری استفاده‌شده شامل کیت استخراج RNA شرکت دنا زیست (ایران) و کیت سنتز cDNA شرکت دنا زیست (ایران) بود.

سنتز نانوذره: ساخت نانوذرهٔ اکسید مس بر اساس روش گزارش‌شده توسط روش رهنما و قراگوزلو (۸) انجام گردید که هم‌رسوبی نامیده می‌شود. در ابتدا محلول ۰/۱ درصد وزنی/حجمی کلرید مس دو آبه (CuCl2.2H2O) در آب مقطر تهیه شد. در ادامه، pH محلول بر روی ۱۱ تنظیم گردید و به مدت دو ساعت در دمای ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد هم زده شد. پس از پایان این مرحله، نانوذرهٔ اکسید مس تشکیل گردید که با استفاده از سانتریفوژ با سرعت ۸۰۰۰ دور/دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه جداسازی شد. نانوذرهٔ به‌دست‌آمده با استفاده از آب مقطر شستشو داده شد و در آون (۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد) خشک گردید.

در مرحلهٔ بعد، یک گرم از نانوذرهٔ اکسید مس و ۰/۵ گرم از D-گلوکز در ۶۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد و در حمام اولتراسونیک به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت تا پراکنده شود. مخلوط حاصل در یک اتوکلاو فولادی ضدزنگ با پوشش تفلون ۱۰۰ میلی‌لیتری به مدت ۳ ساعت در دمای ۱۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفت. محصول در ۶۰۰۰ دور بر دقیقه توسط سانتریفیوژ جداسازی شد. رسوب حاصل پس از سه بار شستشو با آب و اتانول دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت خشک گردید؛ سپس یک گرم از نانوذرات اکسید مس پوشش داده‌شده با دی-گلوکز با ۱ گرم از لاپاتینیب در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر توسط دستگاه اولتراسونیک دیسپرس و سپس توسط شیکر انکوباتور به مدت ۲۴ ساعت همزده شد. پس از ۲۴ ساعت، محصول در ۶۰۰۰ دور بر دقیقه توسط سانتریفیوژ جداسازی گردید. درنهایت، رسوب حاصل سه بار با آب مقطر شستشو داده شد و به مدت ۲۴ ساعت توسط دستگاه فریز درایر خشک گردید.

تعیین ویژگی‌های نانوذره: اندازه و مورفولوژی نانوذرهٔ CuO-Lapatinib با استفاده از تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی انجام شد. به‌منظور تعیین اندازه و ریخت‌شناسی نانوذرات از میکروسکوپ‌های الکترونی گذاره و نگاره استفاده گردید. اندازهٔ ذرات در محیط آبی با استفاده از آزمایش DLS و بار سطحی ذرات با آزمایش تعیین پتانسیل زتا و با استفاده از دستگاه زتا سایزر صورت گرفت. تجزیه‌وتحلیل عنصری نانوذره با استفاده از آزمایش طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس (EDS) انجام شد.

از آزمایش FT-IR به‌منظور تعیین گروه‌های عاملی سطحی نانوذره استفاده گردید. این آزمایش در محدودهٔ جذبی ۵۰۰ تا ۴۰۰۰ cm-1 و با استفاده از دستگاه

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

اسپکتروفتومتر FT-IR انجام شد؛ همچنین ساختار کریستالی نانوذرات با استفاده از آزمایش پراش اشعهٔ ایکس (XRD) در طول‌موج λ=1.54056 Å و با منبع پرتو کبالت انجام پذیرفت.

تعیین آثار مهار تکثیر سلولی: به‌منظور بررسی پتانسیل مهار تکثیر سلول از آزمایش MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide) استفاده گردید. در ابتدا، رده‌های سلولی سرطان پستان (MDA-MB-231) و سلول طبیعی (HDF) که از انستیتو پاستور ایران خریداری‌شده بودند، در محیط کشت Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) حاوی سرم جنین گوساله و پنی‌سیلین/استرپتومایسین کشت داده شدند. پس از رشد تک‌لایهٔ سلولی، سلول‌ها از فلاسک جداسازی گردیدند و با استفاده از لام نئوبار و رنگ‌آمیزی تریپان بلو شمارش شدند. در مرحلهٔ بعد، تعداد ۱۰۴×۱ به هر چاهک در پلیت کشت سلولی ۹۶ خانه اضافه گردید. نانوذرهٔ CuO-Lapatinib به چاهک‌های حاوی سلول افزوده شد، به‌طوری‌که غلظت نهایی نانوذره در چاهک‌ها ۷/۸۱ تا ۵۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر بود. چاهک‌های بدون نانوذره به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. در ادامه، سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. پس از پایان انکوباسیون، محیط کشت خارج شد و ۲۰۰ میکرولیتر محلول MTT افزوده گردید و مجدداً به مدت چهار ساعت انکوبه شد؛ سپس محتوی چاهک تخلیه گردید و ۲۰۰ میکرولیتر محلول دی‌متیل سولفوکساید به چاهک‌ها افزوده شد. پس از انکوباسیون به مدت ۳۰ دقیقه، جذب نوری چاهک‌ها در طول‌موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. در پایان، میزان زیستایی سلول‌ها در غلظت‌های مختلف نانوذرهٔ CuO-Lapatinib با استفاده از رابطهٔ زیر تعیین شد (۱۰، ۹).

$$\text{مهار درصد} = \frac{\text{جذب نوری شاهد} - \text{جذب نوری تیمار}}{\text{جذب نوری شاهد}} \times 100$$

بررسی بیان ژن کاسپاز-۸: به‌منظور بررسی بیان ژن کاسپاز-۸ از آزمایش real-Time PCR استفاده گردید. ابتدا سلول‌های ردهٔ سرطان پستان با نانوذرهٔ CuO-Lapatinib تیمار شدند. غلظت استفاده‌شده در این تیمارها برابر غلظت نیمه‌مهاری (IC50) بود. سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه گردیدند و سپس سلول‌ها جمع‌آوری و با PBS شستشو شدند. در ادامه، محتوی RNA کل با استفاده از کیت تجاری و بر اساس دستورالعمل سازندهٔ کیت استخراج گردید. کیفیت و غلظت RNA استخراج‌شده با استفاده از دستگاه نانودراپ تعیین شد. پس از کسب اطمینان از کیفیت RNA، سنتز cDNA با کیت تجاری انجام گردید. برای بررسی بیان ژن کاسپاز-۸، مخلوط واکنش حاوی ۵ میکرولیتر SYBR Green، ۰/۵ میکرولیتر پرایمرهای مستقیم و معکوس، یک میکرولیتر cDNA و ۳ آب مقطر بدون RNase تهیه شد. تکثیر قطعات DNA در دستگاه ترموسایکلر صورت گرفت. از ژن GAPDH به‌عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد و بیان ژن با استفاده از روش ۲-ΔΔct محاسبه گردید (۱۱). توالی پرایمرهای استفاده‌شده در جدول شمارهٔ ۱ نمایش داده‌شده است.

جدول شمارهٔ ۱. میزان عطرمایهٔ موجود در هر دیسک در مقایسه با میزان رقت عطرمایهٔ گیاه

Primers	Sequences (5′-3′)	Size	References
Caspase8-Forward *Caspase8*-reverse	GACTGGATTTGCTGATTACCTACCTAA CCTCAATTCTGATCTGCTCACTTCT	143 bp	(24)
GAPDH-forward *GAPDH*-reverse	CCCACTCCTCCACCTTTGAC CATACCAGGAAATGAGCTTGACAA	74 bp	(24)

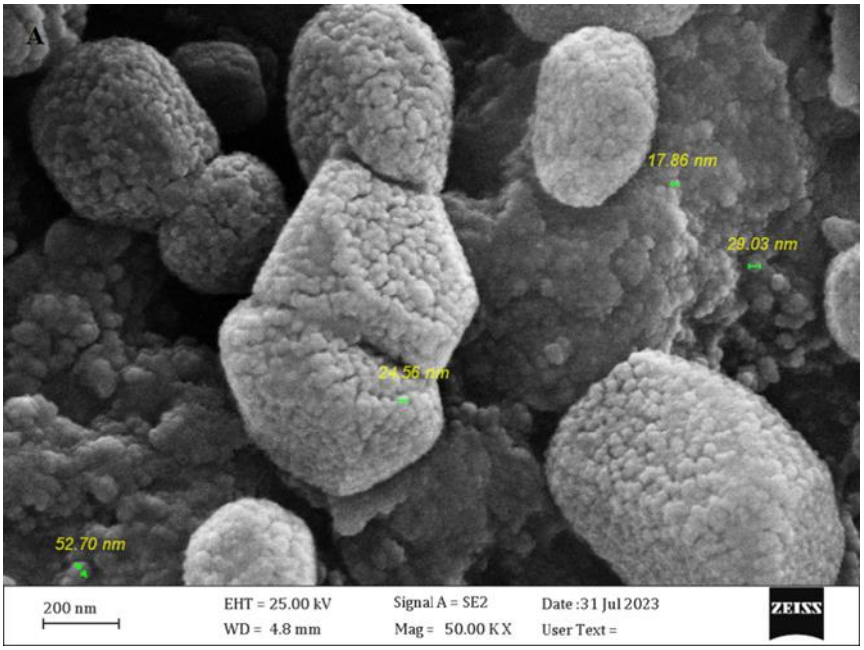
آزمایش‌ها در سه تکرار تجربی انجام گردید و نتایج به‌صورت میانگین و انحراف معیار بیان‌شده است. برای بررسی تفاوت‌های آماری از آنالیز واریانس یک‌طرفه با استفاده از نرم‌افزار SPSS vol.22 استفاده گردید و مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

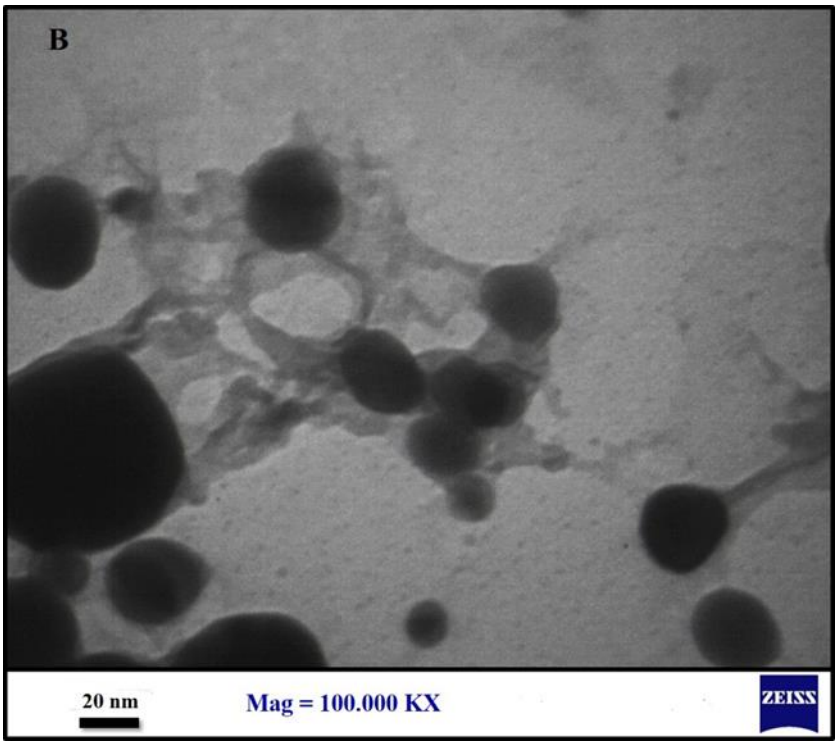
یافته‌های پژوهش

مورفولوژی نانوذرات CuO-Lapatinib با استفاده از

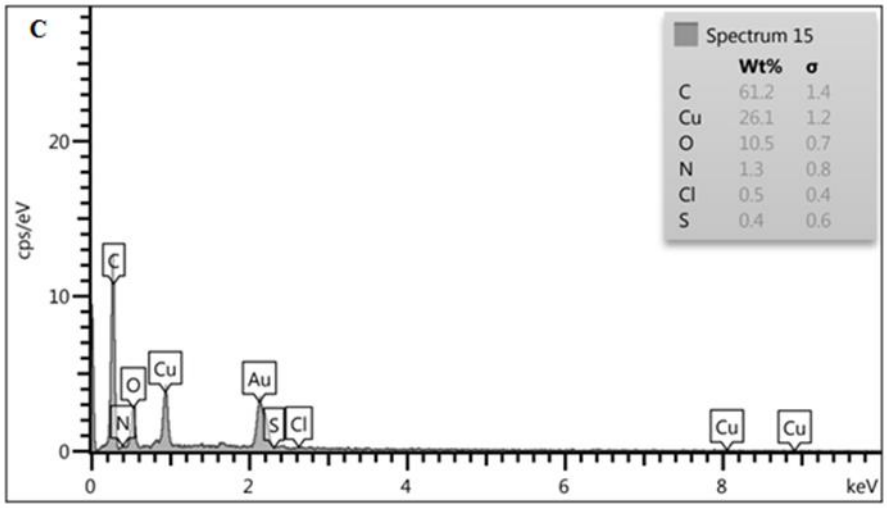
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

تصویربرداری SEM و TEM انجام گردید. نتایج نشان داد که نانوذرات ظاهر کروی دارند و اندازهٔ آنان از ۱۷ تا ۵۵ نانومتر است. شکل شمارهٔ ۱–A و B تصاویر میکروسکوپ الکترونی نانوذرات سنتزشده را نمایش می‌دهد؛ همچنین عناصر تشکیل‌دهندهٔ نانوذره شامل کربن، مس، اکسیژن، نیتروژن، کلر و گوگرد بود که نشان‌دهندهٔ خلوص نانوذره سنتزشده است (شکل شمارهٔ ۱–C).



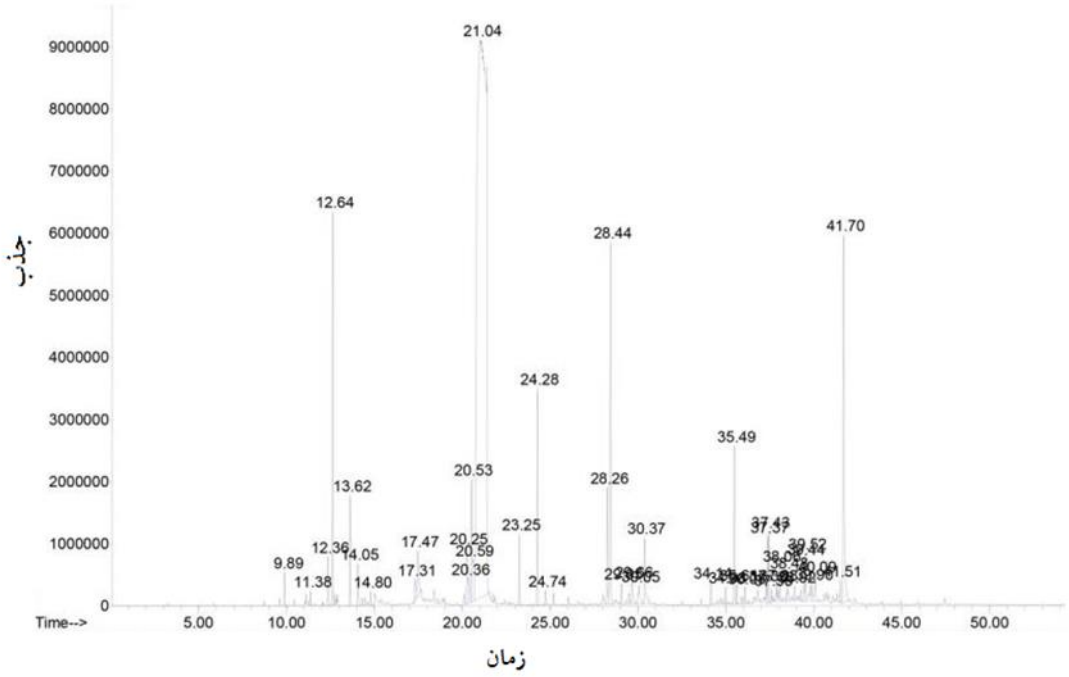


[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]



شکل شماره ۱. A و B تصاویر میکروسکوپ الکترونی SEM و TEM نانوذرهٔ CuO-Lapatinib و C تجزیه‌وتحلیل عنصری نانوذره

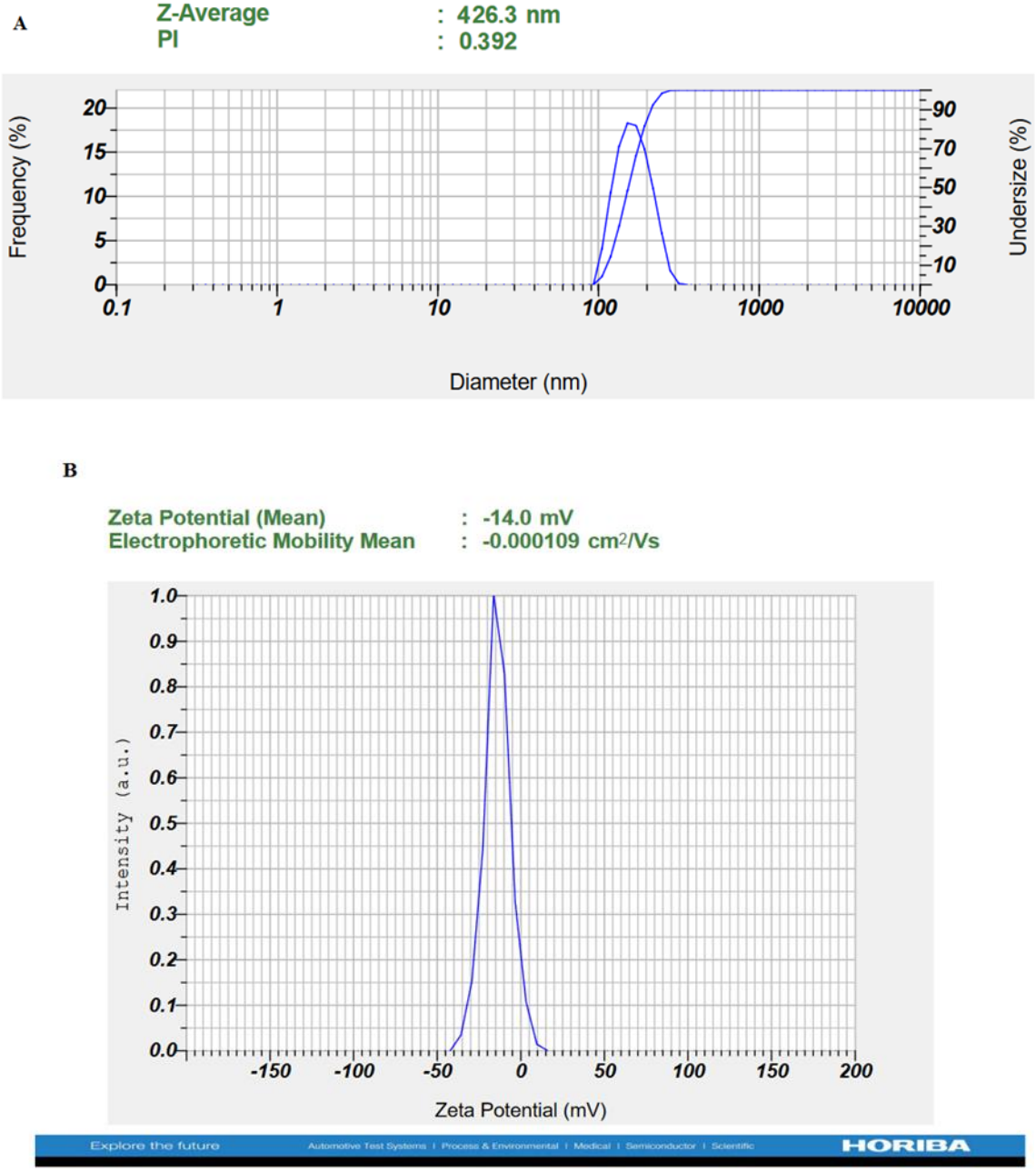
آویشن مرتعی درصد بالایی از مواد فنولی به‌ویژه کارواکرول دارد (شکل شمارهٔ ۱). کارواکرول مایع بی‌رنگ مایل به زرد، یک ترکیب فنلی و مشتق مونوترپن طبیعی است که بیشترین مقدار (۶۶/۹۶ درصد) از مواد تشکیل‌دهندهٔ عطرمایهٔ آویشن مرتعی را تشکیل می‌دهد. این ترکیب ضدالتهاب قوی، ضداسترس، اکسیداتیو و مهارکنندهٔ رشد باکتری و قارچ است و سرعت مرگ سلول‌های سرطانی را افزایش می‌دهد (۱۳).



شکل شماره ۱. کروماتوگرام عطرمایهٔ گیاه آویشن مرتعی به‌دست‌آمده از دستگاه GC-MS

بر اساس نتایج آزمایش DLS، نانوذرهٔ CuO-Lapatinib در محیط آبی با اندازهٔ ۴۲۶/۳ نانومتر است. اندازهٔ نانوذرات در محیط آبی معمولاً به علت جذب آب، بزرگ‌تر از شکل خشک آنان است. افزایش اندازهٔ نانوذرات در آزمایش DLS نیز به سبب جذب آب است. علاوه بر این، شاخص پراکندگی اندازهٔ نانوذره ۰/۳۹۲ بود که نشان‌دهندهٔ همگن بودن اندازهٔ نانوذرهٔ ساخته‌شده است؛ همچنین آزمایش اندازه‌گیری پتانسیل زتا نشان داد که نانوذرهٔ ساخته‌شده بار سطحی ۱۴- میلی‌ولت دارد (شکل شمارهٔ ۲).

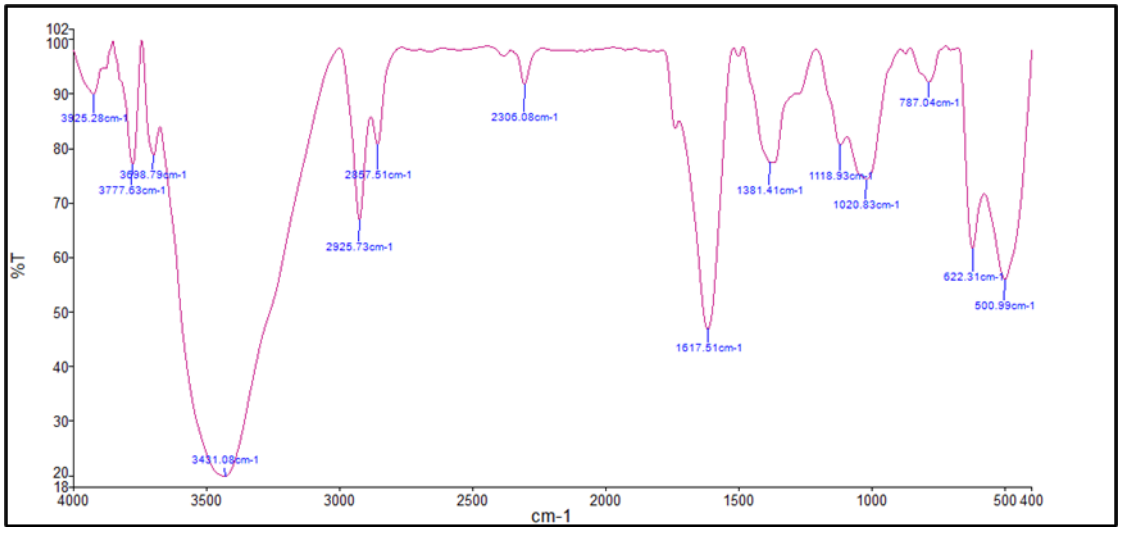
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]



شکل شماره ۲. تجزیه‌وتحلیل‌های DLS (A) و پتانسیل زتای (B) نانوذرهٔ CuO-Lapatinib

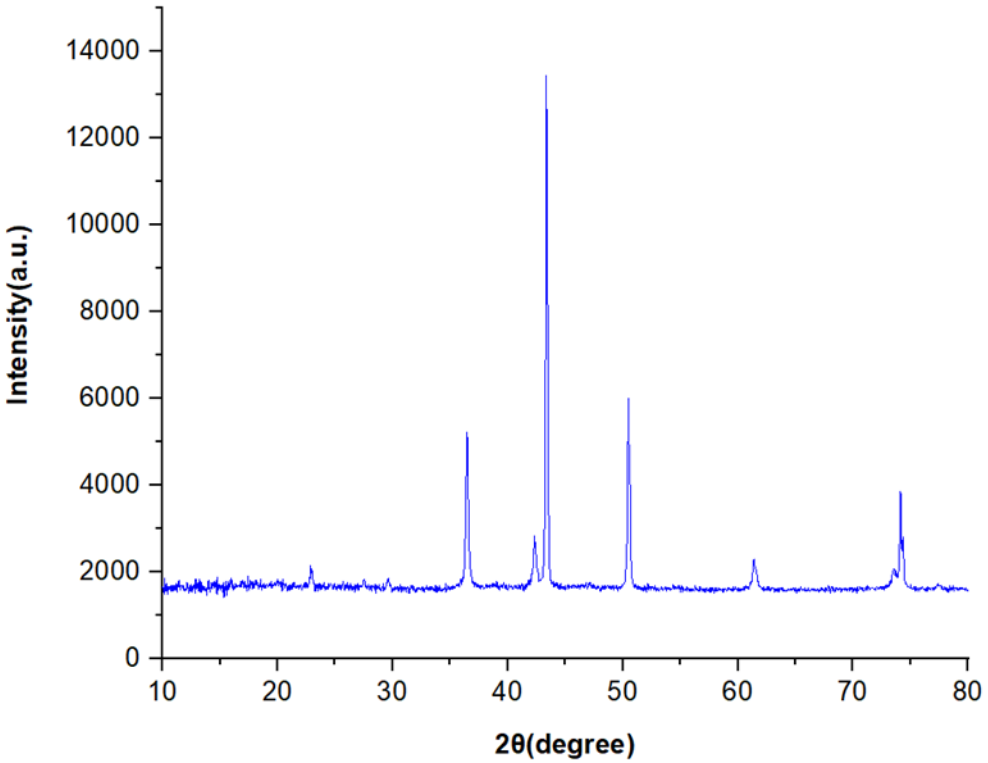
بر اساس نتایج آزمایش FT-IR، پیک‌های جذبی شدیدی در ۵۰۰ و ۶۲۲ cm-1 دیده می‌شود که با پیوند Cu-O مرتبط است. پیک‌های جذبی قابل‌مشاهده در ۷۸۷، ۱۰۲۰، ۱۱۱۸ و ۲۳۰۶ cm-1 به‌ترتیب نشان‌دهندهٔ پیوندهای C-Cl، S-O، N-H و C-C است؛ همچنین پیک‌های قابل‌مشاهده در ۲۹۲۵ و ۳۴۳۱ cm-1 مرتبط با پیوند O-H هستند. با توجه به وجود پیک‌های مربوط به CuO NPs و Lapatinib در باند FT-IR نانوذرات CuO@Lapatinib می‌توان نتیجه گرفت که نانوذرات به‌درستی سنتز شده‌اند (شکل شمارهٔ ۳) (۱۲).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]



شکل شماره ۳. تجزیه‌وتحلیل FT-IR نانوذرهٔ CuO-Lapatinib

بر اساس تجزیه‌وتحلیل XRD، پیک‌های در ۳۶/۴۴، ۴۳/۳۶، ۵۰/۴۸، ۶۱/۳۰ و ۷۴/۱۲ درجه مرتبط با نانوذره CuO هستند که با JCPDS CARD NO 45-0937 (۱۳) مطابقت دارند. به علت خواص آمورف لاپاتینیب، پیک‌های مرتبط با آن در طیف XRD نانوذرهٔ CuO@Lapatinib مشاهده نمی‌شود (۱۴) (شکل شمارهٔ ۴).

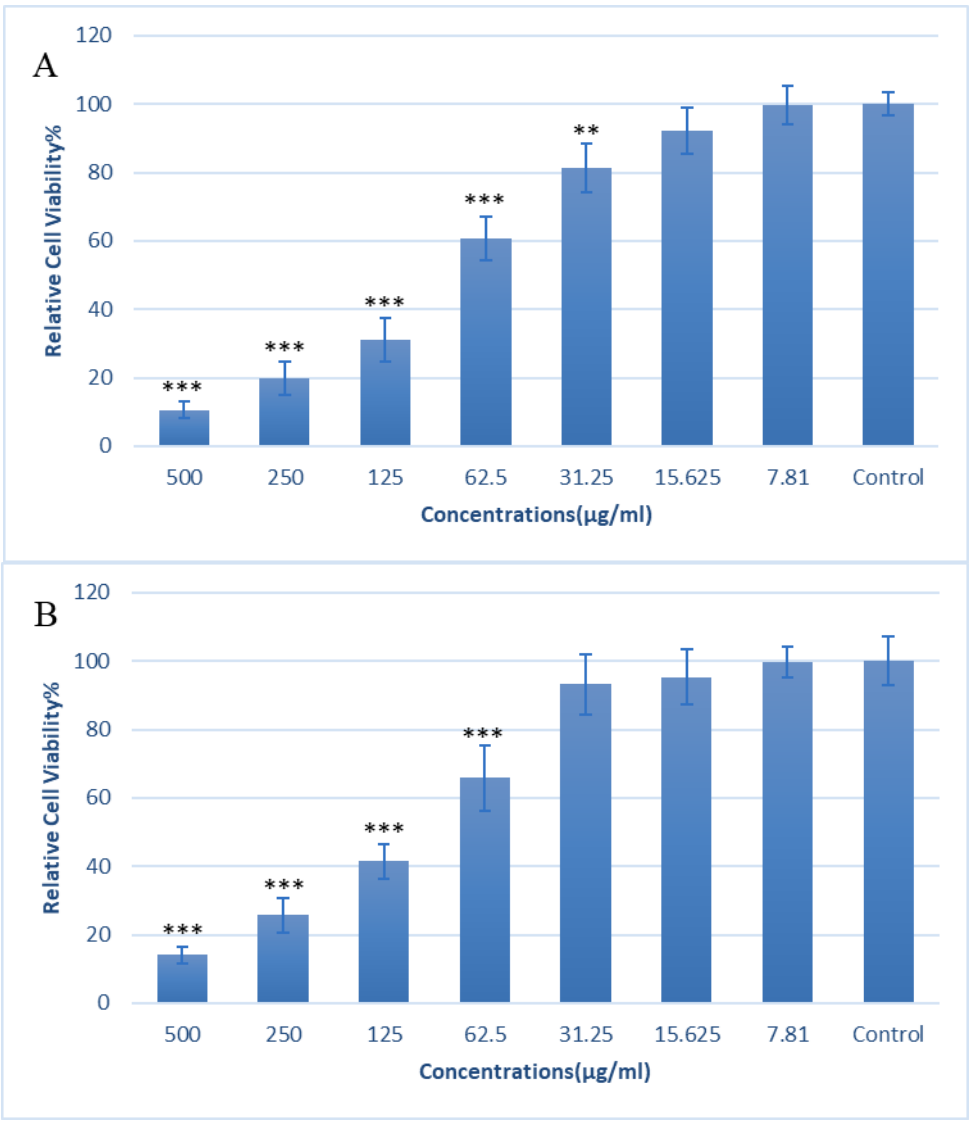


شکل شماره ٤. تجزیه‌وتحلیل XRD نانوذرهٔ CuO-Lapatinib

آزمایش MTT: بررسی زیستایی سلول‌های طبیعی و سلول‌های ردهٔ سرطان پستان با استفاده از آزمایش MTT انجام شد. بر اساس نتایج، حداقل غلظت مهارکنندهٔ معنی‌دار نانوذرهٔ CuO-Lapatinib برای سلول‌های ردهٔ سرطانی ۶۲/۵ میکروگرم/میلی‌لیتر و غلظت نیمه‌مهاری نانوذره برای سلول‌های طبیعی ۱۲۰ میکروگرم/میلی‌لیتر بود؛ همچنین بررسی زیستایی سلول‌های سرطان پستان نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندهٔ معنی‌دار نانوذرهٔ CuO-Lapatinib 25/31

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

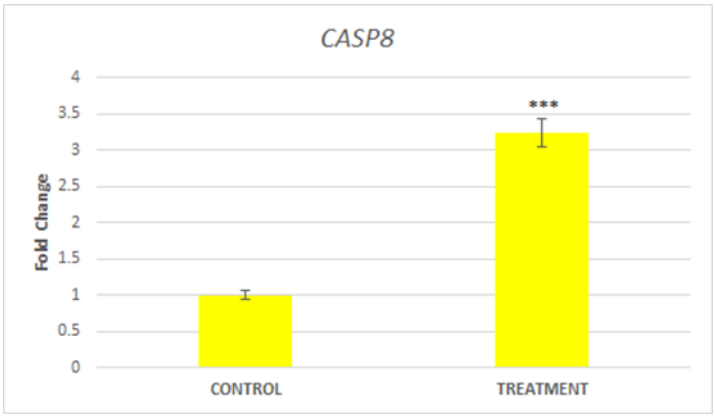
میکروگرم/میلی‌لیتر و غلظت نیمه‌مهاری آن ۷۵ داده‌شده است.
میکروگرم/میلی‌لیتر بود. نتایج در شکل شمارهٔ ۵ نمایش



شکل شماره ۵. زیستایی سلول‌های ردهٔ سرطان پستان (A) و سلول‌های طبیعی (B) در اثر تیمار با غلظت‌های مختلف نانوذرهٔ CuO-Lapatinib.
** نشان‌دهندهٔ مقدار P کمتر از ۰/۰۱ و *** نشان‌دهندهٔ مقدار P کمتر از ۰/۰۰۱ است

بیان ژن کاسپاز-۸: بررسی بیان ژن کاسپاز-۸ نشان داد که تیمار سلول‌های سرطان پستان با نانوذرهٔ CuO-Lapatinib سبب افزایش معنی‌دار بیان ژن کاسپاز-۸ می‌شود ($P<0.05$)؛ به‌بیان‌دیگر، میزان بیان ژن کاسپاز-۸ در سلول‌های تیمارشده نسبت به سلول‌های تیمارنشده ۳/۲۴ برابر افزایش داشت. نتایج در شکل شمارهٔ ۶ نمایش داده‌شده است.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]



شکل شماره ٦. اثر نانوذرهٔ CuO-Lapatinib بر بیان ژن کاسپاز-۸ در سلول‌های ردهٔ سرطان پستان. *** نشان‌دهندهٔ مقدار P کمتر از ۰/۰۰۱ است

بحث و نتیجه‌گیری

سرطان پستان فراگیرترین و کشنده‌ترین نوع سرطان در جمعیت زنان دنیا به‌شمار می‌آید. بروز فنوتیپ‌های مختلف از این بیماری، متاستاز و انواع مقاوم به دارو مهم‌ترین علل حدت این بیماری محسوب می‌شوند. دستیابی به داروهای مؤثرتر یکی از نیازهای ضروری برای درمان این بیماری است. برخی از نانوذرات فلزی به علت ویژگی‌های ضدسرطانی ذاتی که دارند، مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته‌اند؛ همچنین این ذرات می‌توانند به‌عنوان حامل داروهای ضدسرطانی مرد استفاده شوند و با بهبود پایداری و دارورسانی هدفمند، سبب افزایش اثربخشی شیمی‌درمانی گردند. در این مطالعه اثر ضدسرطانی نانوذرهٔ اکسید مس کنژوگه با داروی لاپاتینیب روی ردهٔ سلولی سرطان پستان مطالعه شد و اثر این نانوذره بر بیان ژن کاسپاز ۸ ارزیابی گردید. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که نانوذرهٔ اکسید مس کنژوگه با داروی لاپاتینیب از آثار ضدسرطانی قابل‌توجهی بر سلول‌های سرطان پستان برخوردار است، درحالی‌که آثار مهاری آن بر سلول‌های ردهٔ طبیعی به‌مراتب کمتر است. علاوه بر این، تیمار سلول‌های سرطان پستان با نانوذرهٔ یادشده سبب افزایش چشمگیر بیان ژن کاسپاز-۸ در آنان می‌گردد.

بررسی اثر تیمار سلول‌های سرطان پستان و سلول طبیعی با نانوذرهٔ CuO-Lapatinib نشان داد که این نانوذره آثار سمیتی وابسته به دوز بر هر دو ردهٔ سلولی دارد، هرچند نانوذرهٔ CuO-Lapatinib آثار مهاری قوی‌تری بر سلول‌های ردهٔ سرطان پستان داشت؛ به‌بیان‌دیگر، این نانوذره سبب کاهش قابل‌توجه زنده‌مانی سلول‌های ردهٔ سرطان پستان در مقایسه با سلول‌های طبیعی شد. ویژگی‌های سیتوتوکسیک نانوذرهٔ CuO-Lapatinib را می‌توان به هر دو جزء سازندهٔ آن، یعنی نانوذرهٔ اکسید مس و داروی لاپاتینیب مرتبط دانست. هنگامی‌که نانوذرات اکسید مس وارد سلول یا هسته می‌شوند، به آبشاری از واکنش‌ها منجر می‌گردند که شامل واکنش‌های ژنوتوکسیک مختلف مانند جهش، تغییر بیان ژن، آسیب DNA و آسیب به میتوکندری می‌شود. نانوذرات CuO نشان داده‌اند که به‌طور خاص، میتوکندری‌های داخل سلول را هدف قرار می‌دهند و با ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو در سلول، مسیر سیگنال‌دهی آپوپتوز باواسطهٔ میتوکندری را آغاز می‌کنند؛ بنابراین، ایجاد استرس اکسیداتیو که از طریق افزایش رادیکال‌های آزاد به‌ویژه رادیکال‌های آزاد اکسیژن رخ می‌دهد، یک سازوکار سیتوتوکسیک عمدهٔ نانوذرهٔ اکسید مس است (۱۵). همسو با این مطالعه، ذوغیبی و همکاران نشان دادند که نانوذرهٔ اکسید مس به میزان فراوانی می‌تواند سبب مهار سلول‌های ردهٔ سرطان پستان MDA-MB-231 شود، هرچند آنان گزارش کردند که میزان IC50 نانوذرهٔ ساخته‌شده ۲۰ میکروگرم/میلی‌لیتر بود (۱۶). این تفاوت را می‌توان به تفاوت در روش سنتز نانوذره، اندازهٔ ذرات و شرایط آزمایش مرتبط دانست. در مطالعه‌ای دیگر، شفیعی و همکاران گزارش کردند که نانوذرهٔ اکسید روی عامل‌دارشده با گلوکز و کنژوگه با تیوسمی کاربازون آثار مهاری بیشتری بر سلول‌های سرطان پستان، در مقایسه با سلول‌های طبیعی دارند که با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد (۱۷). در مطالعهٔ آنان،

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

مقدار IC50 97/133 میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که بیشتر از نانوذرهٔ سنتزشده در این مطالعه است.

لاپاتینیب یک مهارکنندهٔ تیروزین کیناز است که به‌طور انتخابی گیرندهٔ فاکتور رشد اپیدرمی را مهار می‌کند و از سال ۲۰۰۷، توسط سازمان غذا و داروی ایالات‌متحده (FDA) برای درمان سرطان سینهٔ متاستاتیک تائید شده است. علاوه بر این، در ترکیب با لتروزول که یک مهارکنندهٔ آروماتاز است، این دارو به‌عنوان درمان خط اول برای سرطان سینه متاستاتیک که گیرنده‌های هورمونی و HER2 را بیان می‌کنند، پذیرفته‌شده است. مطالعات آزمایشگاهی نشان داده است که لاپاتینیب از طریق کاهش فسفریلاسیون گیرنده‌های هدف و پروتئین‌های Raf، ERK، AKT و PLCγ1، فعال‌سازی مسیرهای سیگنال‌دهی EGFR و HER2، MAPK، PI3K-AKT و PLCγ را مهار می‌کند. علاوه بر این، این دارو بیان p38 را که در آپوپتوز نقش دارد، افزایش می‌دهد و توقف در مرحلهٔ subG1 چرخهٔ سلولی (یک نشانهٔ آپوپتوز) و مهارکننده‌های کیناز وابسته به سیکلین p21 و p27 را القا می‌کند (۱۸)؛ بنابراین به نظر می‌رسد، نانوذرهٔ اکسید مس و داروی لاپاتینیب از طریق یک اثرگذاری افزایشی می‌توانند سبب مهار سلول‌های ردهٔ سرطان پستان شوند.

سلول‌های طبیعی نیز درجاتی از حساسیت را نسبت به این نانوذره نشان دادند؛ اما آثار سمیتی نانوذرهٔ CuO-Lapatinib بر سلول‌های ردهٔ سرطان پستان به‌مراتب قوی‌تر بود. این تفاوت می‌تواند به تفاوت در متابولیسم و سرعت تکثیر سلول‌های سرطانی با سلول‌های طبیعی مرتبط باشد. سلول‌های سرطانی سرعت تکثیر بسیار بالاتری نسبت به سلول‌های طبیعی دارند و به این منظور، گیرنده‌های عناصر غذایی و فاکتورهای رشد در این سلول‌ها با افزایش بیان مواجه هستند. این ویژگی می‌تواند سبب افزایش حساسیت سلول‌های طبیعی در برابر داروی لاپاتینیب گردد که یک مهارکنندهٔ گیرندهٔ هورمون رشد بر سطح سلول است (۱۹).

یکی دیگر از علل حساسیت بالای سلول‌های سرطانی در برابر نانوذرهٔ CuO-Lapatinib را می‌توان به ازدیاد استرس اکسیداتیو مرتبط دانست. سلول‌های سرطانی به سبب سرعت متابولیک و نرخ تکثیر بالا، همواره با درجاتی از استرس اکسیداتیو روبرو هستند؛ به‌بیان‌دیگر، میزان رادیکال‌های آزاد تولیدشده در محیط این سلول‌ها بالاتر از سلول‌های طبیعی است؛ به همین علت، این سلول‌ها آستانهٔ تحمل کمتری در برابر ازدیاد استرس اکسیداتیو ناشی از مواجهه با نانوذرهٔ CuO-Lapatinib را دارند و به همین سبب، آثار سیتوتوکسیک نانوذره در سلول‌های ردهٔ سرطان پستان بسیار بیشتر از سلول‌های طبیعی بود (۲۰).

به‌منظور ارزیابی اثر مواجههٔ سلول‌های ردهٔ سرطان پستان با نانوذرهٔ CuO-Lapatinib بر بیان ژن کاسپاز-۸ از آزمایش real-time PCR استفاده شد. نتایج این مطالعه نشان‌دهندهٔ افزایش معنی‌دار بیان ژن یادشده در اثر مواجهه‌سازی با نانوذره بود. کاسپاز-۸ که مانند سایر اعضای خانوادهٔ کاسپاز به‌صورت یک زیموژن غیرفعال تک‌زنجیره‌ای (pro-Caspase-8) ساخته می‌شود، در اثر برش پروتئولیتیک فعال می‌شود و نقش آغازگر اصلی مسیر آپوپتوز بیرونی را ایفا می‌کند؛ همچنین تحت شرایط خاص، این آنزیم می‌تواند مسیر آپوپتوز درونی را نیز تحریک نماید. در مسیر خارجی، اتصال سیگنال‌های محرک آپوپتوز به گیرنده‌های خود که به گیرنده‌های مرگ معروف‌اند، سبب فراخوانی و فعال‌سازی کاسپاز-۸ می‌گردد. این آنزیم نیز به‌نوبهٔ خود با برش پروتئولیتیک، باعث فعال شدن کاسپازهای عملگر می‌شود و به‌این‌ترتیب، سبب پیشروی آبشار کاسپازی و بروز آپوپتوز می‌گردد (۲۱). مطالعهٔ محمود و همکاران نشان داد که تیمار کردن سلول‌های سرطان پستان MCF-7 با نانوذرهٔ اکسید مس سبب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود و باعث افزایش فعالیت کاسپازها ازجمله کاسپاز ۳ و ۹ می‌گردد و به آپوپتوز منجر می‌شود (۲۲)؛ همچنین همسو با نتایج این مطالعه، لی و همکاران دریافتند که لاپاتینیب می‌تواند سبب افزایش فعال‌سازی کاسپاز-۸ گردد و باعث افزایش حساسیت سلول‌های سرطان پستان در برابر داروهای ضدسرطانی می‌شود (۲۳).

مسیر درونی آپوپتوز معمولاً در پاسخ به استرس‌های درون و برون‌سلولی همچون استرس اکسیداتیو و آسیب به

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

DNA رخ می‌دهد. این مسیر که معمولاً با افزایش نفوذپذیری غشای میتوکندری و آزادسازی سیتوکروم c از غشای آن آغاز می‌گردد، سبب فعال‌سازی کاسپاز-۹ و به دنبال آن، فعال‌سازی آبشار کاسپازی منجر به آپوپتوز می‌شود. از سویی، فهمیده شده است که کاسپاز-۸، در صورت فعال شدن، از طریق برهم‌کنش با پروتئین BID سبب افزایش تخریب غشای میتوکندری و آزادسازی سیتوکروم c از میتوکندری می‌گردد و به‌این‌ترتیب، مسیر درونی آپوپتوز را فعال می‌کند (۲۱). بر اساس آنچه در این مطالعه مشاهده شد، تیمار سلول‌های ردهٔ سرطان پستان با نانوذرهٔ CuO-Lapatinib سبب افزایش معنی‌دار بیان کاسپاز-۸ می‌شود. با در نظر گرفتن نقش کاسپاز-۸ در مسیرهای درونی و بیرونی آپوپتوز، افزایش بیان این ژن می‌تواند نشان‌دهندهٔ القای آپوپتوز به‌عنوان سازوکار ضدسرطانی نانوذرهٔ CuO-Lapatinib باشد.

در این مطالعه، آثار ضدسرطانی نانوذرهٔ CuO-Lapatinib بر سلول‌های ردهٔ سرطان پستان بررسی گردید. نتایج نشان داد که نانوذرهٔ سنتزشده سمیت وابسته به غلظت بر سلول‌های سرطانی داشت و آثار سمیتی قوی‌تری در سلول‌های سرطانی نسبت به سلول‌های طبیعی نشان داد؛ همچنین تیمار سلول‌های سرطان پستان با نانوذرهٔ CuO-Lapatinib سبب افزایش معنی‌دار بیان ژن کاسپاز-۸ شد که می‌تواند نشان‌دهندهٔ فعال‌سازی مسیرهای آپوپتوز درونی و بیرونی در این سلول‌ها باشد. این مطالعه آثار ضدسرطانی امیدوارکنندهٔ نانوذرهٔ CuO-Lapatinib را در سلول‌های سرطان پستان نشان می‌دهد که می‌تواند گامی روبه‌جلو و آینده‌دار در دارورسانی هدفمند با استفاده از نانوذرات اکسید فلزی به‌منظور مقابله با سرطان پستان باشد. بااین‌حال، مطالعات گسترده‌تر به‌منظور بررسی میزان سمیت سیستمیک، پایداری نانوذره و اثربخشی این نانوذره در شرایط درون‌تنی (in vivo) که از محدودیت‌های این مطالعه است، در مطالعات بعدی باید مورد توجه قرار گیرند.

سپاس‌گزاری

نویسندگان از کارکنان آزمایشگاه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد واحد رشت تشکر می‌کنند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ تعارض منافعی ندارند و این پروژه هیچ حمایت مالی دریافت نکرده است. گفتنی است، نویسندگان سهم مساوی در مقاله دارند.

کد اخلاق

با توجه به اینکه این تحقیق روی موجود زنده نبود، نیاز به اخذ کد اخلاق نداشت.

حمایت مالی

این تحقیق هیچ کمک مالی خاصی از سازمان های تأمین مالی در بخش های عمومی، تجاری یا غیر انتفاعی دریافت نکرد.

مشارکت نویسندگان

نویسندگان دارای سهم مساوی در نگارش مقاله می باشند.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

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. Fang X, Cao J, Shen A. Advances in anti-breast cancer drugs and the application of nano-drug delivery systems in breast cancer therapy. J Drug Deliv Sci Technol. 2020;57:101662. doi:10.1016/j.jddst.2020.101662.
3. Kim GJ, Nie S. Targeted cancer nanotherapy. Mater Today. 2005; 8:28-33. doi:10.1016/S1369-7021(05)71034-8.
4. Waris A, Din M, Ali A, Ali M, Afridi S, Baset A, et al. A comprehensive review of green synthesis of copper oxide nanoparticles and their diverse biomedical applications. Inorg Chem Commun. 2021; 123:108369. doi:10.1016/j.inoche.2020.108369.
5. Verma N, Kumar N. Synthesis and biomedical applications of copper oxide nanoparticles: an expanding horizon. Verma N, Kumar N. Synthesis and biomedical applications of copper oxide nanoparticles: an expanding horizon. ACS Biomater Sci Eng. 2019; 5:1170-88. doi:10.1021/acsbiomaterials.8b01092.
6. Szymański P, Frączek T, Markowicz M, Mikiciuk-Olasik E. Development of copper based drugs, radiopharmaceuticals and medical materials. Biometals. 2012; 25:1089-112. doi:10.1007/s10534-012-9578-y.
7. Chandrakala V, Aruna V, Angajala G. Review on metal nanoparticles as nanocarriers: Current challenges and perspectives in drug delivery systems. Emerg Mater. 2022; 5:1593-615. doi:10.1007/s1001841722004867.
8. Rahnama A, Gharagozlou M. Preparation and properties of semiconductor CuO nanoparticles via a simple precipitation method at different reaction temperatures. Opt Quantum Electron. 2012; 44:313-22. doi:10.1007/s11082-011-9540-1.
9. Hosseinkhah M, Ghasemian R, Shokrollahi F, Mojdehi SR, Noveiri MJ, Hedayati M, et al. Cytotoxic potential of nickel oxide nanoparticles functionalized with glutamic acid and conjugated with thiosemicarbazide (NiO@ Glu/TSC) against human gastric cancer cells. J Clust Sci. 2022; 33:2045-53. doi:10.1007/s10876-021-02124-2.
10. Kumari R, Saini AK, Kumar A, Saini RV. Apoptosis induction in lung and prostate cancer cells through silver nanoparticles synthesized from Pinus roxburghii bioactive fraction. J Biol Inorg Chem. 2020; 25:23-37. doi: 10.1007/s00775-019-01729-3.
11. 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.
12. Talarposhti MV, Salehzadeh A, Jalali A. Comparing the toxicity effects of copper oxide nanoparticles conjugated with Lapatinib on breast (MDA-MB-231) and lung (A549) cancer cell lines. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2024: 397 :6855-6866. doi: 10.1007/s00210-024-03071-1.
13. Bouazizi N, Bargougui R, Oueslati A, Benslama R. Effect of synthesis time on structural, optical and electrical properties of CuO nanoparticles synthesized by reflux condensation method. Adv Mater Lett. 2015; 6:158-64. doi: 10.5185/amlett.2015.5656.
14. Varlashkin P. X-ray powder diffraction data of lapatinib ditosylate monohydrate. Powder Diffr. 2009; 24:250-3. doi:10.1154/1.3187152.
15. Yang Q, Wang YE, Yang Q, Gao Y, Duan X, Fu Q, et al. Cuprous oxide nanoparticles trigger ER stress-induced apoptosis by regulating copper trafficking and overcoming resistance to sunitinib therapy in renal cancer. Biomaterials. 2017; 146:72-85. doi:10.1016/j.biomaterials.2017.09.008.
16. Zughaibi TA, Mirza AA, Suhail M, Jabir NR, Zaidi SK, Wasi S, et al. Evaluation of anticancer potential of biogenic copper oxide nanoparticles (CuO NPs) against breast cancer. J Nanomater. 2022;2022:5326355. doi:10.1155/2022/5326355.
17. Shafiei I, Tavassoli SP, Rahmatollahi HR, Ghasemian R, Salehzadeh A. A novel copper oxide nanoparticle conjugated by thiosemicarbazone promote apoptosis in human breast cancer Cell line. J Clust Sci. 2022;33:2697-706. doi:10.1007/s10876-021-02187-1.
18. Segovia-Mendoza M, González-González ME, Barrera D, Díaz L, García-Becerra R. Efficacy and mechanism of action of the tyrosine kinase inhibitors gefitinib, lapatinib and neratinib in the treatment of HER2-positive breast cancer: preclinical and clinical evidence. Am J Cancer Res. 2015;5:2531.
19. Xuhong JC, Qi XW, Zhang Y, Jiang J. Mechanism, safety and efficacy of three tyrosine kinase inhibitors lapatinib, neratinib and pyrotinib in HER2-positive breast cancer. Am J Cancer Res. 2019; 9:2103-19.
20. Redza-Dutordoir M, Averill-Bates DA. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. Biochim Biophys Acta. 2016; 1863:2977-92. doi: 10.1016/j.bbamcr.2016.09.012.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]

21. Mandal R, Barrón JC, Kostova I, Becker S, Strebhardt K. Caspase-8: The double-edged sword. Biochim Biophys Acta Rev Cancer. 2020; 1873:188357. doi: 10.1016/j.bbcan.2020.188357.
22. Mahmood RI, Kadhim AA, Ibraheem S, Albukhaty S, Mohammed-Salih HS, Abbas RH, et al. Biosynthesis of copper oxide nanoparticles mediated Annona muricata as cytotoxic and apoptosis inducer factor in breast cancer cell lines. Sci Rep. 2022; 12: 16165. doi:10.1038/s41598-022-20360-y.
23. Li YT, Qian XJ, Yu Y, Li ZH, Wu RY, Ji J, et al. EGFR tyrosine kinase inhibitors promote pro-caspase-8 dimerization that sensitizes cancer cells to DNA-damaging therapy. Oncotarget. 2015;6:17491. doi: 10.18632/oncotarget.3959.
24. Tajmehri H, Mousavi FS, heydarnezhad M, Golrokh FJ, Nezami PV, Khanpour P, et al. Evaluation of the cytotoxic effect of cobalt oxide nanoparticles functionalized by glucose and conjugated with lapatinib (Co3O4@ Glu-Lapatinib) on a lung cancer cell line and evaluation of the expression of CASP8, mTOR1, and MAPK1 genes. BioNanoScience. 2024;14:999-1010. doi:10.1007/s12668-024-01348-6.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-10-10]