**Applied molecular biology**
Vol.4, issu.8, Autumn. 2025
pp.65-84

# The effect of *Galium verum* extract on apoptosis induction and correlation analysis of *BIM* and *SORT1* gene expression in ovarian cancer cell model: Identification of some active ingredients

**Fatemeh Keshvari[1], Somayeh Arabzadeh[2*], Masoomeh Hasanbarani[3], shadi Hajrasouliha[4]**

1. MS.c, Department of Biology, Faculty of Basic Science, Ale Taha Institute of Higher Education, Tehran, Iran.
2. Assistant professor, Department of Biology, Faculty of Basic Science, Ale Taha Institute of Higher Education, Tehran, Iran.
3. Department of Biology, Faculty of Basic Science, Ale Taha Institute of Higher Education, Tehran, Iran.
4. Assistant professor, Assistant Professor, Herbal Pharmacology Research Center, TeMS.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.

* Corresponding author: sahar.arabzadeh@gmail.com ORCID : 0000-0002-7330-8271

Article history:
Received: 23/11/2025 Revised: 09/12/2025 Accepted: 20/12/2025

## Abstract

Cadherins play important and different roles in health and diseases. This large glycoprotein family is usually involved in cell adhesion of soft tissues and in tissue growth and differentiation. Catenins are functional partners of cadherins. Alpha, beta, gamma and P-120 catenin are the most important of them. Rac1, Cdc42, RhoA, members of the Rho-GTPase family, are regulators of actin re-formation of the cytoskeleton and play an effective role in regulating cadherin adhesion. The structure of cadherin is composed of the cytoplasmic domain, the external part and the part that passes through the membrane. Cadherins play different roles in cancer progression and metastasis. They do not only have an inhibitory role, in some cases they cause the development or metastasis of cancer. EMT is involved in this process as well as in the normal function of cadherins. Cadherins are an interesting and challenging subject in the field of biological sciences and oncology. The complexity of expression regulation, the involvement of different regulators, diverse functional contributors, the dual opposite

function that is often inhibitory and in some cases developmental in different cancers, in addition to their importance in the development and differentiation of tissues, together create this attraction. Each of these cases can be an important issue and a challenge for new research. In this review article, an attempt has been made to briefly examine the above.

**Keywords:** E-cadherin-EMT, G-Protein, Rho, N-cadherin, cancer

**زیست‌شناسی مولکولی کاربردی**
سال چهارم/ شماره ۸/ پاییز ۱۴۰۴
صفحات ۶۵-۸۴

# تحلیل همبستگی میزان بیان ژن‌های BIM و SORT1 در مدل سلولی سرطان تخمدان تیمار شده با عصاره Galium verum: شناسایی برخی مواد مؤثره

**فاطمه کشوری[۱]، سمیه عرب‌زاده*[۲]، معصومه حسن بارانی[۳]، شادی حاج‌رسولیها[۴]**
۱. کارشناسی‌ارشد گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم پایه مؤسسه آموزش عالی غیرانتفاعی آل‌طه، تهران، ایران.
۲. استادیار گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم پایه مؤسسه آموزش عالی غیرانتفاعی آل‌طه، تهران، ایران.
۳. گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم پایه مؤسسه آموزش عالی غیرانتفاعی آل‌طه، تهران، ایران.
۴. استادیار مرکز تحقیقات فارماکولوژی گیاهان دارویی علوم پزشکی تهران دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
* نویسنده مسئول: sahar.arabzadeh@gmail.com، ORCID: 0000-0002-1655-4265
تاریخ بارگزاری: ۱۴۰۴/۰۹/۰۲ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۱۲/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۲۹

## چکیده

سرطان تخمدان به‌دلیل تشخیص دیرهنگام و مقاومت درمانی، یکی از مرگبارترین سرطان‌هاست. مطالعات گذشته، خواص ضدسرطانی عصاره گیاه Galium verum (شیرپنیر) را نشان داده‌اند. این مطالعه به بررسی اثرات عصاره برگ گیاه Galium verum (شیرپنیر) بر روی رده سلولی سرطان تخمدان A2780 پرداخته است. سلول‌ها با غلظت‌های مختلف عصاره (۶,۲ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در بازه‌های زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. تغییرات بیان ژن‌های BIM وSORT1 با استفاده از تکنیک Real-Time PCR اندازه‌گیری شد. همچنین ماده مؤثره موجود در گیاه شیرپنیر به روش ماسراسیون استخراج و با روش کروماتوگرافی گازی شناسایی شد.

تحلیل همبستگی بین بیان دو ژن با آزمون اسپیرمن انجام شد. نتایج نشان داد که غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره پس از ۴۸ ساعت، موجب کاهش ۵۰ درصدی زندهمانی سلولی می‌شود؛ همبستگی مثبت و قوی‌ای بین افزایش بیان این دو ژن، هم در گروه کنترل (P= ۰,۰۰۴ ، r =۰,۹۹۶) و هم در گروه تیمار با عصاره (P= ۰,۰۰۱ ، r= ۰,۹۹۹) مشاهده شد. از سوی دیگر، ۱۵ ماده مؤثره در عصاره هیدروالکلی برگ گیاه شناسایی شد که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به Pentasiloxane, Cycloheptasiloxane, Dodecamethyl، N-Benzyl-N-ethyl-p-isopropylbenz اشاره کرد. یافته‌ها حاکی از آن است که عصاره Galium verum با القای آپپتوز از طریق افزایش بیان ژن‌های BIM و SORT1، پتانسیل ضدسرطانی قابل توجهی در برابر سلول‌های سرطان تخمدان دارد. این نتایج می‌تواند زمینه را برای توسعه داروهای گیاهی جدید در درمان سرطان فراهم کند.

**کلمات کلیدی:** سرطان تخمدان، گیاه شیرپنیر، Galium verum،SORT1، BIM

**مقدمه**

سرطان تخمدان به‌عنوان یکی از کشنده‌ترین بدخیمی‌های دستگاه تولیدمثلی زنان شناخته می‌شود که به‌دلیل عدم وجود روش غربالگری مؤثر و بروز علایم غیراختصاصی، غالباً در مراحل پیشرفته بیماری تشخیص داده می‌شود.[۱] این تأخیر در تشخیص، منجر به پیش‌آگهی ضعیف و نرخ بقای ۵ ساله پایین، به‌ویژه در جمعیت‌های پرخطر می‌شود.[۲] از نظر بافت‌شناسی، بیش از ۹۰ درصد موارد این سرطان از نوع اپیتلیال است که خود به زیرگروه‌های متعددی مانند سروز، موسینوس و اندومتریوئید تقسیم‌بندی می‌شود.[۳] اگرچه عوامل خطرزایی مانند سابقه خانوادگی و جهش‌های ژنی خاص مانند BRCA نقش بسزایی در ابتلا ایفا می‌کنند، اما فقدان راهبردهای تشخیصی زودهنگام، مدیریت این بیماری را با چالش‌های عمده‌ای مواجه ساخته است؛[۱، ۴] بنابراین شناسایی نشانگرهای زیستی جدید و درک بهتر مکانیسم‌های مولکولی حاکم بر تکثیر و بقای سلول‌های سرطانی تخمدان، برای توسعه راهکارهای درمانی نوین از اولویت

بالایی برخوردار است.

با توجه به چالش‌های موجود در درمان‌های متعارف سرطان تخمدان از جمله عوارض جانبی شدید و بروز مقاومت دارویی در شیمی‌درمانی، توجه به درمان‌های مکمل و جایگزین مبتنی بر گیاهان دارویی در دهه‌های اخیر افزایش یافته است.[۵] مطالعات گسترده نشان داده‌اند که ترکیبات فعال موجود در گیاهان، از طریق مکانیسم‌های مختلفی از جمله القای آپوپتوز، مهار تکثیر سلولی، مهار رگزایی و تعدیل مسیرهای سیگنالینگ کلیدی در پیشرفت سرطان، اثرات ضدتوموری خود را اعمال می‌کنند.[۶] برای مثال، ترکیباتی مانند رزوراترول، کورکومین و پاکلیتاکسل از منابع گیاهی استخراج شده‌اند، توانایی هدف‌گیری انتخابی سلول‌های سرطانی تخمدان و القای مرگ برنامه‌ریزی شده در آن‌ها را از طریق فعال‌سازی کاسپازها و مهار فاکتورهای ضدآپوپتوزی مانند Bcl-2 داشته‌اند.[۷] این یافته‌ها، پتانسیل بالای ترکیبات گیاهی را به‌عنوان استراتژی‌های درمانی کم‌عارضه‌تر یا به‌عنوان عوامل حساس‌کننده به شیمی‌درمانی در سرطان تخمدان نشان می‌دهند و لزوم تحقیق بیشتر برای بهره‌برداری بالینی از آن‌ها را توجیه می‌کنند.

گیاه Galium verum (شیرپنیر) به‌دلیل دارا بودن ترکیبات زیست‌فعال متعدد از جمله ایریدوئیدها، فلاونوئیدها و آنتراکینون‌ها، توجه پژوهش‌گران حوزه سرطان را به خود جلب کرده است. مطالعات مختلف در محیط کشت، پتانسیل ضدسرطانی عصاره این گیاه را در برابر رده‌های سلولی مختلف سرطانی نشان داده‌اند. به‌عنوان مثال عصاره *Galium verum* با القای آپوپتوز از طریق مسیرهای وابسته به کاسپاز، مهار چرخه سلولی در فاز G2/M و نیز مهار رگزایی (آنژیوژنز)، رشد تومور را سرکوب می‌کند.[۸] یک مطالعه خاص گزارش کرد که عصاره متانولی این گیاه، بقای سلول‌های سرطانی پستان (MCF-7) را به‌طور قابل‌توجهی و وابسته به غلظت کاهش می‌دهد.[۹] همچنین ترکیبات فنلی موجود در این گیاه با مهار رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو، به مکانیسم اثر ضدتوموری آن کمک می‌کنند. [۱۰] این شواهد علمی، *Galium verum* را به‌عنوان یک کاندیدای امیدوارکننده برای توسعه درمان‌های طبیعی ضدسرطان مطرح می‌سازد و لزوم انجام مطالعات بیشتر به‌ویژه در مدل‌های

جانوری و کارآزمایی‌های بالینی را پررنگ می‌کند.[۱۲]

یکی از این مکانیسم‌های کلیدی، آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی است که در کنترل رشد سلول‌های سرطانی نقش اساسی دارد. در این مسیر، خانواده پروتئین‌های BCL-2 از جمله فاکتورهای مهم تنظیم‌کننده آپوپتوز به‌شمار می‌روند. BIM، به‌عنوان یکی از اعضای پروآپوپتوزی این خانواده، در آغاز فرایند مرگ سلولی نقش ایفا می‌کند. از سوی دیگر، ژن SORT1 نیز که در برخی سرطان‌ها از جمله کارسینومای تخمدان بیش‌ازحد بیان می‌شود، به‌عنوان یک انکوژن بالقوه مطرح است. این ژن در مسیرهای سیگنال‌دهی مرتبط با زنده‌مانی و مرگ سلولی دخیل بوده و ممکن است هدف درمانی مناسبی برای مقابله با پیشرفت سرطان باشد.[۱۱، ۱۲].

در این مطالعه، به بررسی میزان همبستگی بیان ژن‌های BIM و SORT1 در سلول‌های سرطان تخمدان تیمار شده با عصاره گیاه Galium verum پرداخته شده است. همچنین توسط روش کروماتوگرافی گازی (GC) ترکیبات فرار موجود در عصاره گیاهی شیر پنیر مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### تهیه و شناسایی نمونه گیاهی

پیکر رویشی گیاه Galium verum (شیر پنیر) از منطقه قودجان واقع در شهرستان خوانسار در خرداد و تیرماه سال ۱۴۰۱ جمع‌آوری شد. شناسایی گیاه توسط متخصص گیاه‌شناسی در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آل‌طه تأیید و نمونه با کد هرباریومی ۰۰۱ در هرباریوم گیاهی دانشگاه بایگانی شد. از اندام‌های برگ گیاه شیر پنیر جهت آنالیزهای شیمیایی استفاده شد.

### تهیه عصاره متانولی

نمونه گیاهی پس از شست‌وشو و خشک شدن در سایه، با استفاده از آسیاب‌برقی به پودر نرم تبدیل شد. عصاره‌گیری به روش ماسراسیون انجام شد. بدین‌منظور ۱۰ گرم از پودر گیاه در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد حل شده و به مدت ۷۲ ساعت بر روی شیکر

مغناطیسی مدلHB850 ، ساخت ایران در دمای اتاق $^{c}$۳۷ قرار گرفت. در پایان، عصاره از طریق کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شده و برای استفاده در مراحل بعدی نگهداری شد.

**کشت سلولی و تیمار با عصاره**

رده سلولی A2780 سرطان تخمدان از مؤسسه پاستور تهران تهیه شد. سلول‌ها در محیط کشت RPMI-1640 حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاو (FBS) و ۱ درصد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین-استرپتومایسین در انکوباتور استاندارد سلولی (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۹۵ درصد و ۵ درصد دی‌اکسیدکربن) کشت داده شدند. برای انجام آزمون‌های زیستی، سلول‌ها پس از رسیدن به تراکم ۶۰-۷۰ درصد، با غلظت‌های مختلف عصاره متانولی (۶,۲، ۱۲,۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. سلول‌ها در زمان خریداری از نظر آلودگی به مایکوپلاسما مورد بررسی قرار گرفت و رده سلولی فاقد این باکتری خریداری شد.

**ارزیابی سمیت سلولی و تعیین غلظت مهارکنندگی($IC_{50}$)**

اثر سمیت عصاره بر زنده‌مانی سلول‌های سرطانی با استفاده از آزمون MTT مورد بررسی قرار گرفت. Briefly، سلول‌ها با چگالی $^{۴}$۱۰ سلول در هر چاهک در پلیت ۹۶ چاهکی کشت داده شدند. پس از ۲۴ ساعت، محیط کشت جایگزین شده و غلظت‌های مختلف عصاره به چاهک‌ها اضافه شد. پس از پایان دوره‌های تیمار (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت)، محلول MTT به هر چاهک اضافه و پس از ۴ ساعت انکوباسیون، کریستال‌های تشکیل شده Formazan در دی‌متیل سولفو اکسید (DMSO) حل شدند. جذب نوری در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر اندازه‌گیری گردید. درصد سمیت سلولی با استفاده از رابطه زیر محاسبه و منحنی استاندارد براساس آن رسم شد تا غلظت مهارکنندگی ۵۰ درصد ($IC_{50}$) تعیین شد:

$$\%Cytotoxicity = [1 - (ODtreated / ODcontrol)] \times 100$$

**بررسی بیان ژن‌ها به روش Real-Time PCR**

جهت بررسی سطح بیان ژن‌های مورد مطالعه، ابتدا توالی پرایمرهای اختصاصی با استفاده از نرم‌افزار GeneRunner طراحی و توسط شرکت سیناکلون سنتز شد. استخراج RNA کل از سلول‌های تیمار شده و شاهد با استفاده از کیت RNX-Plus (سیناکلون) و براساس دستورالعمل سازنده انجام پذیرفت. غلظت RNA استخراج شده توسط دستگاه نانودراپ مورد بررسی قرار گرفت و کیفیت RNA استخراجی توسط ژل آگارز بررسی شد. سنتز cDNA با استفاده از کیت cDNA سازی پارس توس و در ادامه، واکنش Real-Time PCR با کیت مخصوص (SensiFAST SYBR Lo-ROX) بر روی دستگاه Labcycler و در ۳۵ سیکل انجام شد. ژن β-actin به‌عنوان کنترل داخلی (Housekeeping Gene) برای نرمال‌سازی داده‌ها به‌کار رفت.

## روش کروماتوگرافی

در این پژوهش ماده مؤثره موجود در گیاه شیر پنیر به روش ماسراسیون استخراج و با روش کروماتوگرافی گازی ترکیبات فرار بررسی شدند. کروماتوگرافی گازی برای اندازه‌گیری مواد مؤثره عصاره هیدروالکلی برگ گیاهان مناسب است؛ زیرا عصاره آبی برگ گیاهان حاوی ترکیبات فرار است. ترکیبات فرار به راحتی در گاز حل می‌شوند. فاز متحرک در کروماتوگرافی گازی یک گاز است؛ بنابراین ترکیبات فرار موجود در عصاره هیدروالکلی برگ گیاهان به‌راحتی در فاز متحرک حل می‌شوند و می‌توانند از طریق ستون کروماتوگرافی عبور کنند.

به اندازه هر گرم از پودر گیاه ۱۰ میلی لیترمتانول ۷۰٪ اضافه شد و در دمای اتاق به مدت ۷۲ ساعت در تاریکی روی شیکر (مگنتی آلفا HB-850) ساخت ایران قرار گرفت. پس از سه روز محلول آماده شده صاف و جهت خشک کردن عصاره با حفظ ماده مؤثره گیاه در آون با درجه ۳۰ سانتیگراد قرار گرفت. پودر عصاره به‌دست آمده برای تهیه استوک اصلی جهت کروماتوگرافی تهیه شد. این روش، برای به‌دست آوردن عصاره با بالاترین عملکرد و مقدار قابل‌توجهی از پلی‌فنل‌ها مناسب است.[۱۳] نمودارهای کروماتوگرافی به‌دست آمده توسط دستگاه MassHunter در بازه‌های زمانی مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

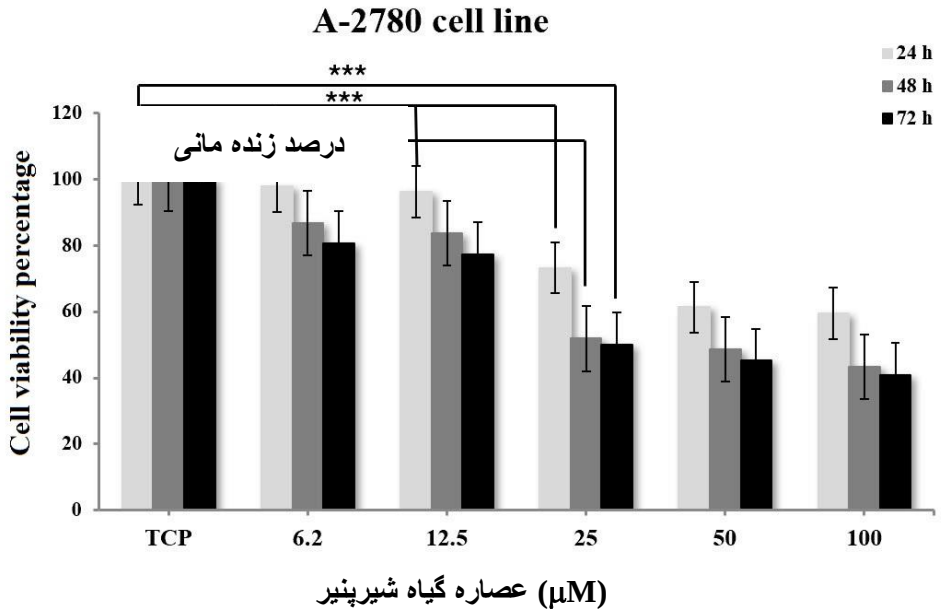
## تجزیه و تحلیل آماری

توصیف کمّی داده‌ها با استفاده از شاخص‌های پراکندگی مرکزی از قبیل میانگین و انحراف استاندارد انجام شد. از آزمون Sample-KS جهت بررسی توزیع نرمال داده‌ها استفاده شد. همچنین برای بررسی معنی‌داری متغیرها بین گروه‌ها از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و در صورت مشاهده تفاوت از تست‌های تعقیبی توکی در آزمون ANOVA استفاده شد. با استفاده از آزمون Spearman همبستگی بین میزان بیان ژن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. سطح معنی‌داری $p <$ ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. کلیه آنالیز داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS 23 انجام شد.

## نتایج

### اثر عصاره گیاه شیرپنیر بر رشد سلول‌های سرطان تخمدان انسانی

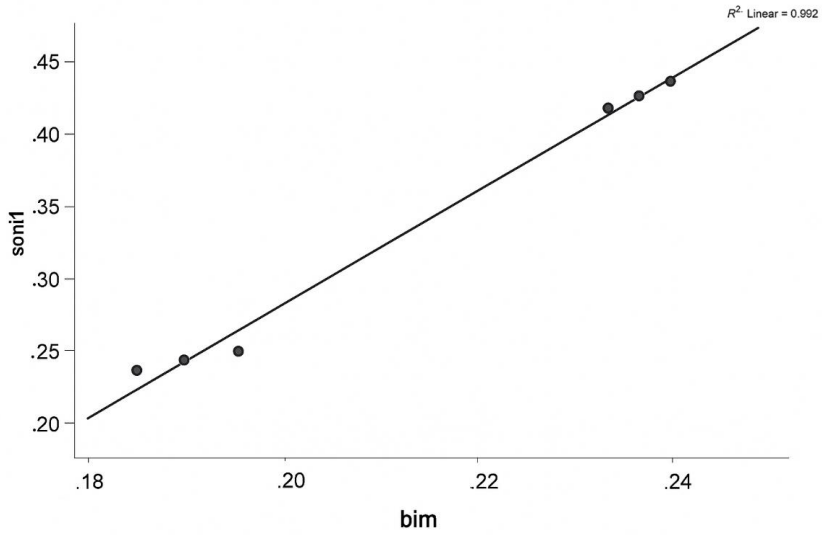
نتایج ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف عصاره گیاه شیرپنیر بر زنده‌مانی سلول‌های سرطان تخمدان نشان داد که تیمار با غلظت ۲۵ میکرومولار، تأثیر قابل‌توجهی بر درصد زنده‌مانی سلول‌ها دارد. به‌طوری که درصد زنده‌مانی سلول‌ها در این غلظت، در مقایسه با گروه کنترل و نیز غلظت‌های پایین‌تر (۱۲,۵ و ۶,۲ میکرومولار)، کاهشی معنادار را نشان داد ($P < 0.01$). همچنین اثر این غلظت وابسته به زمان است؛ به‌گونه‌ای که پس از ۲۴ ساعت، زنده‌مانی سلول‌ها به‌طور معناداری بیشتر از زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت مشاهده شد ($P<0.05$). بر این اساس، غلظت ۲۵ میکرومولار که کمترین غلظت مؤثر برای القای مرگ ۵۰ درصد از سلول‌ها (IC50) بود، برای مطالعات بعدی انتخاب شد (شکل ۱).[۱۲]



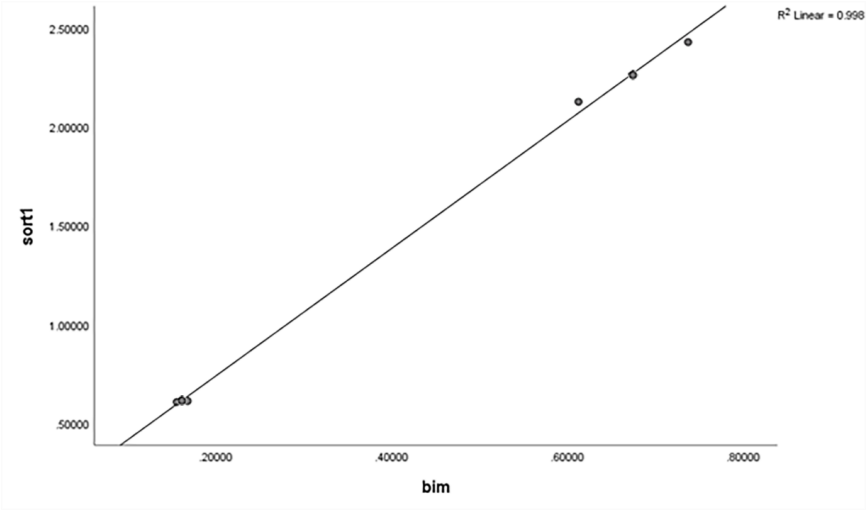

**شکل ۱.** درصد زنده‌مانی دودمان سلول‌های سرطان تخمدان انسانی A2780 تحت تیمار با عصاره گیاه شیرپنیر. غلظت ۲۵ میکرومولار غلظت بهینه برای سایر آزمایشات می‌باشد.

## همبستگی میزان بیان ژن‌های آپپتوزی BIM و SORT1 در سلول‌های سرطان تخمدان انسانی

نتایج آزمایش Real-Time PCR نشان داد، تیمار دودمان سلولی سرطان تخمدان انسانی A2780 با عصاره گیاهی شیرپنیر موجب افزایش معنادار دو برابری در میزان بیان ژن BIM و ۱,۵ برابری در میزان بیان ژن SORT1 می‌گردد. [۱۲] تحلیل آماری، همبستگی مثبت و قوی‌ای را بین افزایش بیان این دو ژن، هم در گروه کنترل (P= ۰,۰۰۴، r =۰,۹۹۲) (شکل ۲) و هم در گروه تیمار با عصاره (P= ۰,۰۰۱ ، ۰,۹۹۸ =r) (شکل ۳). نشان داد. یافته‌ها حاکی از آن است که عصاره Galium verum با القای آپپتوز از طریق افزایش هماهنگ بیان ژن‌های BIM و SORT1، پتانسیل ضدسرطانی قابل‌توجهی در برابر سلول‌های سرطان تخمدان دارد.



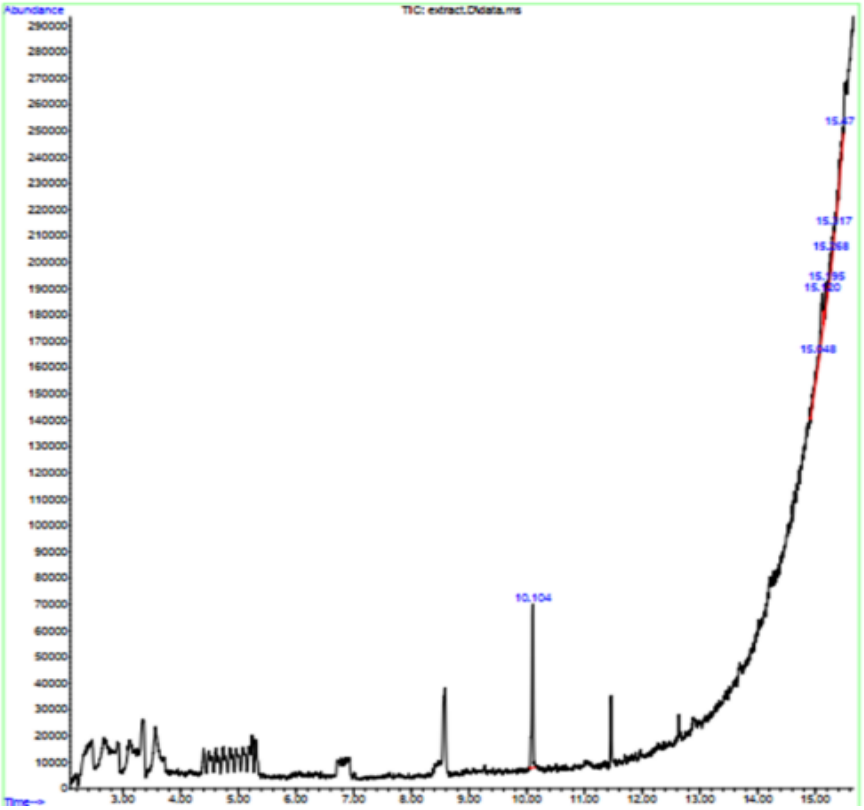

**شکل ۲.** همبستگی بین میزان بیان ژن Sort1 و bim در گروه کنترل. در سلول‌های سالم گروه کنترل میزان بیان ژن Sort1 با ژن bim همبستگی مثبت و معناداری را نشان داد (P<0.01).




**شکل ۳.** همبستگی بین میزان بیان ژن Sort1 و bim در گروه تیمار شده با عصاره. در سلول‌های تیمار شده با عصاره گیاه شیرپنیر. میزان بیان ژن Sort1 با ژن bim همبستگی مثبت و معناداری را نشان داد (P<0.001).

## نتایج حاصل از کروماتوگرافی

۱۵ ماده مؤثره در ۷ بازه زمانی با غلظت‌ها و کیفیت‌های مختلف در عصاره هیدروالکلی برگ گیاه شیرپنیر شناسایی شد. مهم‌ترین ماده مؤثره‌های شناسایی شده شامل: Dodecamethyl Cycloheptasiloxane, Pentasiloxane، N-Benzyl-N-ethyl-p-isopropylbenz می‌باشد (شکل ۴). ماده مؤثره در ۷ پیک توسط تکنیک کروماتوگرافی گازی در عصاره هیدروالکلی برگ گیاه شیرپنیر در جدول شماره ۱ ارائه شده است (جدول ۱).




**شکل ۴.** تصویر کروماتوگرافی به‌دست آمده از عصاره هیدروالکلی گیاه شیرپنیر.

**جدول۱.** ماده مؤثره در ۷ پیک توسط تکنیک کروماتوگرافی گازی در عصاره هیدروالکلی برگ گیاه شیرپنیر.

| ردیف | RT (min) | ردیف کتابخانه | محصول | کیفیت | درصد غلظت |
|---|---|---|---|---|---|
| ۱ | ۱۰,۱۰۳ | NIST05a.L-1 | Cycloheptasiloxane, tetradecamet | ۷۰ | **۴۶,۵۷** |
| ۲ | ۱۰,۱۰۳ | NIST05a.L-2 | Pentasiloxane, dodecamethyl | ۴۵ | |
| ۳ | ۱۰,۱۰۳ | NIST05a.L-3 | N-Benzyl-N-ethyl-p-isopropylbenz | ۳۸ | |
| ۴ | ۱۵,۰۴۷ | wiley7n.l1 | Cyclotrisiloxane, hexamethyl | ۴۵ | **۹,۱۵** |
| ۵ | ۱۵,۱۲۲ | NIST05a.L-1 | Benzo[h]quinoline, 2,4-dimethyl | ۴۳ | **۱۸,۶۲** |
| ۶ | ۱۵,۱۲۲ | NIST05a.L-2 | Tetrasiloxane, decamethyl | ۳۸ | |
| ۷ | ۱۵,۱۲۲ | wiley7n.l-2 | -Methylisothiazolo[4,5-c]-2,1,3. | ۳۸ | |
| ۸ | ۱۵,۱۹۶ | 2–NIST05a.L | 1,2-Bis(trimethylsilyl)benzene | ۳۸ | **۶,۱۲** |
| ۹ | ۱۵,۱۹۶ | 3–NIST05a.L | Methyltris(trimethylsiloxy)silane | ۳۸ | |
| ۱۰ | ۱۵,۱۹۶ | wiley7n.l-2 | Arsenous acid, tris(trimethylsil) | ۴۳ | |
| ۱۱ | ۱۵,۲۷۰ | NIST05a.L-2 | Silicic acid, diethyl bis(trimet..) | ۳۸ | **۴,۷۳** |
| ۱۲ | ۱۵,۴۷۶ | NIST05a.L-3 | Methylisothiazolo[4,5-c]-2,1,3 | ۳۸ | **۸,۱۶** |
| ۱۳ | ۱۵,۳۱۶ | NIST05a.L-3 | 2,4,6-Cycloheptatrien-1-one, 3,5... | ۳۸ | **۶,۶۶** |
| ۱۴ | ۱۵,۰۴۷ | NIST05a.L-3 | 2,4,6-Cycloheptatrien-1-one, 3,5... | ۳۸ | **۹,۱۵** |
| ۱۵ | ۱۵,۴۷۶ | NIST05a.L-1 | Diethyl-1-(carb-n-butoxy)propylp | ۳۸ | **۸,۱۶** |

## بحث و نتیجه‌گیری

سرطان تخمدان به‌عنوان سومین بدخیمی شایع در میان زنان در سطح جهانی شناخته می‌شود. با این وجود، به‌دلیل ماهیت بدون علامت در مراحل اولیه و تشخیص دیرهنگام، این بیماری بالاترین نرخ مرگ‌ومیر را در میان تمام سرطان‌های زنان به خود اختصاص داده است.[۱۴] هنگامی که سرطان تخمدان تشخیص داده می‌شود، اغلب با آسیت بدخیم و متاستازهای داخل صفاقی همراه است که درمان را با چالش‌های جدی مواجه می‌سازد.[۱۵] شایع‌ترین نوع این سرطان، سرطان تخمدان اپیتلیال است که مشخصه‌های آن شامل رشد سریع، تهاجم به اندام‌های احشایی و حساسیت موقتی به شیمی‌درمانی است. این ویژگی‌ها منجر به پیش‌آگهی ضعیف و نرخ درمان پایین حدود

۳۰ درصد شده است.[۱۶] رویکرد درمانی استاندارد برای این بیماری، شیمی‌درمانی برپایه پلاتین و تاکسان است، اما عوارض جانبی قابل‌توجه، مقاومت دارویی و نرخ بالای عود بیماری از محدودیت‌های اصلی این روش محسوب می‌شوند. در سال‌های اخیر، توجه قابل‌ملاحظه‌ای به پتانسیل درمانی گیاهان دارویی در مدیریت سرطان معطوف شده است. گیاهان دارویی نه‌تنها به‌عنوان منابع بالقوه عوامل درمانی نوین، بلکه به‌عنوان ابزارهای ارزشمند برای تحقیقات فارماکولوژیک و توسعه دارو مورد بررسی قرار می‌گیرند[۱۵].

گیاه Galium verum (شیرپنیر) که گیاهی علفی و چندساله از خانواده روبیاسه است، بومی مناطق اروپا و آسیا است؛ با خاستگاه اصلی در قاره آسیا که طب سنتی جایگاه ویژه‌ای در فرهنگ آن دارد. در چارچوب درمان‌های مکمل سرطان در صنعت گیاهان دارویی، این گیاه مورد توجه ویژه محققین قرار گرفته است. بخش‌های هوایی خشک شده این گیاه در طب سنتی برای درمان بیماری‌های متعددی به‌کار رفته است.[۱۷]

در این بررسی مهم‌ترین ماده مؤثره‌های فرار شناسایی شده شامل Cycloheptasiloxane, Dodecamethyl، Pentasiloxane, N-Benzyl-N-ethyl-p-isopropylbenz است. شناسایی اجزای فرار Galium verum در کوه‌های آلپ غربی ایتالیا نشان داد که اسانس برگ‌های شیرپنیر دارای مقدار زیادی ۲-متیل بنزآلدئید، که این ترکیب به‌طور طبیعی در سایر گیاهان معطر نیز وجود دارد.[۱۸]

براساس تحقیقات گذشته گیاه Gallium دارای ترکیبات فنلی(بنزوئیک، کارواکرول، کاتچین و کلروژنیک) اسید، تی‌سینامیک اسید، ۸سینامویل هارپاژید (هارپاگوساید)، اسید اوکوماریک، پی‌کوماریک اسید، ۲،۳دی‌متوکسی بنزوئیک اسید، اپی‌کاتچین، اسید تی‌فرولیک، اسید گالیک، اسید۳-هیدروکسی بنزوئیک،۴-هیدروکسی بنزوئیک اسید،۳-هیدروکسی-۴-متوکسی بنزآلدئید، نارینگین، نارینژنین، کوئرستین، روتین، اسید سیناپینیک، اسید سیرینگیک، اسید وانیلیک و آنتراکینون‌ها[۱۹] و مقادیر کمی اسانس و ویتامین C می‌باشد.[۲۰] پژوهش‌ها بر روی اثر بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره شیرپنیر بر روی موش نشان داده است که اثر فلانوئیدهای شیرپنیر برسلول‌های

آسیب‌دیده موش ماده، اثر مهارکننده دارد.[۲۱]

تعیین الگوی فنولی چندگونه شیرپنیر نشان داد که عصاره این گونه‌ها حاوی بالاترین خاصیت فنلی هستند. محتویات فلاونوئیدی این عصاره‌ها، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارد و قوی‌ترین اثر بازدارندگی در برابر تیروزیناز، ایفا می‌کند (آنزیمی که در چندین اختلال پوستی نقش دارد). این بررسی‌ها نشان می‌دهد که عصاره‌های شیرپنیر پتانسیل استفاده به‌عنوان منبع جایزین را دارد.[۲۲] مواد مؤثره (سیکلوهپتاسیلوکسان، پنتاسیلوکسان، N-بنزن N-اتیل، بنزوکینولین، تتراسیلوکسان، متیل ایزوتیازولو، ۱،۲ - بیس (تری متیل سیلیل) بنزن، متیل تریس (تری متیل سیلوکسی) سیلان، اسید آرسنوس، اسید سیلیسیک، ۱- دی اتیل) می‌توانند اثر آنتی‌اکسیدانی مورد نظررا روی انواع سرطان‌ها داشته باشد. تحقیقات بر روی پتانسیل درمانی ترکیبات فیتوشیمیایی، گیاه گالیوم و روم اثبات کرد که عصاره Galium verum از طریق مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی و تعدیل‌کننده سیستم ایمنی، اثرات ضدپسوریازیسی را اعمال می‌کند و از پتانسیل آن به‌عنوان یک درمان کمکی طبیعی برای پسوریازیس استفاده می‌شود.[۲۳] مطالعات فیتوشیمیایی و فارماکولوژیکی گیاه شیرپنیر نشان داده است که تنوع ترکیبات زیست فعال موجود در این گیاه می‌تواند آن را به‌عنوان یک گیاه دارویی ارزشمند معرفی کند.[۲۴]

مطالعات آزمایشگاهی نشان داده‌اند که عصاره گیاه شیرپنیر در غلظت ۲۵ میلی‌مولار موجب کاهش ۵۰ درصدی در زنده‌مانی سلول‌های سرطان تخمدان انسانی می‌شود. همچنین این عصاره بیان ژن پیش‌آپوپتوزی *BIM* را تا دو برابر نسبت به گروه کنترل افزایش می‌دهد. علاوه بر این، میزان بیان ژن SORT1 پس از تیمار با عصاره گیاه شیرپنیر تا ۴ برابر گروه کنترل افزایش می‌یابد.[۱۲] مطالعات نشان می‌دهند که ترکیبات فعال موجود در عصاره شیرپنیر از جمله ایریدوئیدها و آنتراکینون‌ها ممکن است از طریق القای آپوپتوز، مهار تکثیر سلولی و مهار مسیرهای سیگنالینگ التهابی در سلول‌های سرطانی عمل کنند. همچنین این ترکیبات ممکن است با مهار آنژیوژنز، از ایجاد عروق جدید تغذیه‌کننده تومور جلوگیری کنند.[۲۵] همچنین براساس پژوهش چینگ‌دینگ و همکاران در ژوئیه ۲۰۱۵، تأثیر ماده شیمیایی ۸-برومو-۷-متوکسی

کریزین بر مسیر سیگنالینگ Akt/FOXO3a در سلول‌های سرطان تخمدان مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌های این مطالعه نشان داد که این ترکیب با تعدیل بیان ژن‌های آپوپتوزی از طریق افزایش رونویسی ژن Bim، منجر به القای آپوپتوز در سلول‌های سرطان تخمدان حساس به سیسپلاتین می‌شود.[۲۶]

تحقیقات نشان داد که عصاره گیاه شیرپنیر به‌طور هم‌زمان منجر به افزایش بیان ژن‌های BIM و SORT1 در سلول‌های سرطان تخمدان می‌شود. ژن BIM (BCL2L11) به‌عنوان یک عضو پیش‌آپوپتوتیک ضروری از خانواده BCL-2 شناخته می‌شود که نقش تعیین‌کننده‌ای در القای آپوپتوز در پاسخ به محرک‌های استرس سلولی و شیمی‌درمانی ایفا می‌کند.[۲۷] مطالعات متعددی نشان داده‌اند که سطوح بیان BIM یک فاکتور پیش‌بینی‌کننده کلیدی در پاسخ به درمان‌های سرطان از جمله سیس‌پلاتین در سرطان تخمدان است.[۲۸] از سوی دیگر، ژن SORT1 (Sortilin 1) که به‌عنوان یک گیرنده وزیکولی عمل می‌کند، نقش‌های پیچیده و گاهی متناقضی در پاتوبیولوژی سرطان نشان داده است. اگرچه برخی مطالعات SORT1 را به‌عنوان یک اونکوژن معرفی کرده‌اند که متابولیسم لیپوپروتئین و پیام‌رسانی رشد سلولی را تنظیم می‌کند، پژوهش‌های دیگر نقش آن در مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده را برجسته ساخته‌اند.[۲۹]

شواهد نوظهور نشان می‌دهند که SORT1 می‌تواند به‌عنوان یک کمک‌گیرنده برای رسپتورهای مرگ عمل کند و پیام‌رسانی‌های آپوپتوتیک را تقویت نماید.[۳۰] در این مدل، SORT1 ممکن است ارائه پروتئین‌های پیش‌آپوپتوتیک مانند BIM را به کمپلکس‌های پیام‌رسانی مرگ تسهیل کند. تجزیه و تحلیل پروموترهای ژنی BIM و SORT1 وجود سایت‌های اتصال بالقوه مشترک برای فاکتورهای رونویسی مرتبط با استرس از جمله FOXO3a و p53 را نشان می‌دهد [۳۱ و ۳۲]. این یافته نشان می‌دهد که این دو ژن ممکن است تحت شبکه‌های تنظیمی مشترک در پاسخ به محرک‌های استرس‌زا از جمله شیمی‌درمانی یا ترکیبات گیاهی فعال شوند. مطالعات پروتئومیک تعامل‌های فیزیکی بالقوه بین پروتئین SORT1 و اعضای خانواده BCL-2 را شناسایی کرده‌اند.[۳۳] این تعاملات ممکن است بر پایداری، موقعیت‌یابی سلولی یا فعالیت عملکردی BIM تأثیر بگذارد.

همبستگی مشاهده شده بین بیان BIM و SORT1 در این مطالعه ممکن است پیامدهای مهمی برای درمان سرطان داشته باشد. اگر SORT1 واقعاً نقش تسهیل‌کننده در مسیرهای مرگ سلولی ایفا کند، استراتژی‌های درمانی که به‌طور هم‌زمان هر دو این مولکول‌ها را هدف قرار می‌دهند ممکن است اثرات سینرژیستی در القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی داشته باشند.

## منابع


1. Lheureux, S., Gourley, C., Vergote, I., Oza, A.M., (2019). “Epithelial ovarian cancer”. *Lancet*, Mar 23;3 93(10177):1240-1253.
2. Torre, L.A., Trabert, B., DeSantis, C.E., Miller, K.D., Samimi, G., Runowicz, C.D., Gaudet, M.M., Jemal, A., Siegel, R.L. (2018). “Ovarian cancer statistics, 2018”. *CA Cancer J Clin*; 68(4):284-296.
3. Kurman, R.J., Shih, I.e.M. (2016). “The Dualistic Model of Ovarian Carcinogenesis”: Revisited, Revised, and Expanded. *Am J Pathol*; 186(4):733-47.
4. Reid; F., Bhatla; N., Oza; A.M., Blank; S.V., Cohen, R., Adams, T., Benites, A., Gardiner, D., Gregory, S., Suzuki, M., Jones, A. (2021). “The World Ovarian Cancer Coalition Every Woman Study: identifying challenges and opportunities to improve survival and quality of life”. *Int J Gynecol Cancer*, 31(2):238-244.
5. Greenlee, H., Balneaves, L.G., Carlson, L.E., Cohen, M., Deng, G., Hershman, D., Mumber, M., Perlmutter, J., Seely, D., Sen, A., Zick, S.M., Tripathy, D. (2014). “Society for Integrative Oncology. Clinical practice guidelines on the use of integrative therapies as supportive care in patients treated for breast cancer”. *J Natl Cancer Inst Monogr*. (50):346-58.
6. Wang, Q.Q., Li, M.X., Li, C., Gu, X.X., Zheng, M.Z., Chen, L.X., Li, H. (2020). “Natural Products and Derivatives Targeting at Cancer Energy Metabolism: A Potential Treatment Strategy”. *Curr Med Sci*, 40(2):205-217.
7. Gali-Muhtasib, H., Roessner, A. (2006). “Schneider-Stock R. Thymoquinone: a promising anti-cancer drug from natural sources.” *Int J Biochem Cell Biol*. 38(8):1249-53.
8. Schmidt, M., Polednik, C., Roller, J., Hagen, R. (2014). “Galium verum aqueous extract strongly inhibits the motility of head and neck cancer cell lines and protects mucosal keratinocytes against toxic DNA damage”. *Oncol Rep*, 32(3):1296-302.
9. Dehdashti, M., Abbasy, Z., Zaferani Arani, H., Adin Atashi, H., Salimi-Tabatabaee, S.A., Ghasemi, A., Fereidouni, Z., Zare Marzouni, H., Zakeri, H., Mirmalek ,S.A. (2023). “Cytotoxic and Apoptotic Effects of Vanadyl Sulfate on MCF-7 Breast Cancer Cell Line”. *Galen Med J*, 21;12:e3050.
10. Petkova, M.K., Grozeva, N.H., Tzanova, M.T., Todorova, M.H. (2025). “A Review of Phytochemical and Pharmacological Studies on *Galium verum* L., Rubiaceae. *Molecules*, 21; 30(8):1856.
11. Hanahan, D., Weinberg, R.A. (2011). “Hallmarks of cancer: the next generation. Cell”. *Mar*, 4;144(5):646-74.
12. Keshvari, F., Arabzadeh, S., Hasanbarani, M., Akbarian, F., Hajrasoulih, S.h. (2025). “Induction of apoptosis in ovarian cancer cell lines by *Galium verum* extract”. *Journal of Animal Biology*, 17(4):129-149.

13. Hajizadeh S, Mattiasson B. Cryogels with affinity ligands as tools in protein purification. *Methods Mol Biol*, 2015; 1286:183-200.
14. Webb, P.M., Jordan, S.J. (2024). "Global epidemiology of epithelial ovarian cancer". *Nature Reviews Clinical Oncology*, 21(5):389-400.
15. Sari, U., F. Zaman, F. (2024). "Effects of rosmarinic acid and doxorubicine on an ovarian adenocarsinoma cell line (OVCAR3) via the EGFR pathway". *Acta Cirúrgica Brasileira*, 39: e390524.
16. Lengyel, E. (2010). "Ovarian cancer development and metastasis". *The American journal of pathology*, 177(3):1053-1064.
17. Schmidt, M., Polednik, C., Roller, J., Hagen, R. (2014). "Galium verum aqueous extract strongly inhibits the motility of head and neck cancer cell lines and protects mucosal keratinocytes against toxic DNA damage". *Oncology Reports*, 32.3: 1296-1302.
18. Tava, A., Biazzi, E., Ronga, D. and Avato, P., 2020. Identification of the volatile components of Galium verum L. and Cruciata leavipes opiz from the western Italian Alps. *Molecules*, *25*(10), p.2333.
19. Zhao, C.C., Shao, J.H., Li, X., Kang, X.D., Zhang, Y.W., Meng, D.L. and Li, N. (2008). "Flavonoids from Galium verum L". *Journal of Asian natural products research*, *10*(7), pp.611-615.
20. Lakić, N.S., Mimica-Dukić, N.M, Isak, J.M. and Božin, B.N. (2010). "Antioxidant properties of Galium verum L.(Rubiaceae) extracts." *Central European Journal of Biology* 5: 331-337.
21. Farcas, A.D., Mot, A.C., Zagrean-Tuza, C., Toma, V., Cimpoiu, C., Hosu, A., Parvu, M., Roman, I. and Silaghi-Dumitrescu, R. (2018). "Chemo-mapping and biochemical-modulatory and antioxidant/prooxidant effect of Galium verum extract during acute restraint and dark stress in female rats". *PLoS One*, *13*(7), p.e0200022.
22. Mocan, A., Diuzheva, A., Bădărău, S., Moldovan, C., Andruch, V., Carradori, S., Campestre, C., Tartaglia, A., De Simone, M., Vodnar, D. and Tiecco, M. (2019). "Liquid phase and microwave-assisted extractions for multicomponent phenolic pattern determination of five Romanian Galium species coupled with bioassays". *Molecules*, *24*(7), p.1226.
23. Daskalovic, B., Jakovljevic, V., Bolevic, S., Andjic, M., Bradic, J., Kocovic, A., Nikolic, M., Nedeljkovic, N., Milosavljevic, J., Baljak, J. and Krivokapic, M. (2025). "The Therapeutic Potential of Galium verum for Psoriasis: A Combined Phytochemical, In Silico, and Experimental Approach". *International Journal of Molecular Sciences*, *26*(15), p.7290.
24. Petkova, M.K., Grozeva, N.H., Tzanova, M.T. and Todorova, M.H. (2025). "A Review of Phytochemical and Pharmacological Studies on Galium verum L., Rubiaceae". *Molecules*, *30*(8), p.1856.
25. Koca, I., & Ustun, O. (2021). "Biological activities and chemical composition of *Galium verum* L. (Lady's bedstraw)". *Journal of Ethnopharmacology*, 276,

114143.
26. Ding, Q., Chen, Y., Zhang, Q., Guo, Y., Huang, Z., Dai, L., Cao, S. (2015). "8-bromo-7-methoxychrysin induces apoptosis by regulating Akt/FOXO3a pathway in cisplatin-sensitive and resistant ovarian cancer cells". *Mol Med Rep*, 12(4):5100-8.
27. Akiyama, T., et al. (2020). "The Bcl-2 homology 3 (BH3)-only protein Bim regulates apoptosis during development". *Journal of Biological Chemistry*, 295(15), 5055-5065.
28. Harada, H., Grant, S. (2012). "Targeting the regulatory machinery of BIM for cancer therapy". *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 22(2):117-29.
29. Strong, A., Patel, K., Rader, D.J. (2014). "Sortilin and lipoprotein metabolism: making sense out of complexity". *Curr Opin Lipidol*, 25(5):350-7.
30. Nykjaer, A., Lee, R., Teng, K.K., Jansen, P., Madsen, P., Nielsen, M.S., Jacobsen, C., Kliemannel, M., Schwarz, E., Willnow, T.E., Hempstead, B.L., (2004). "Petersen CM. Sortilin is essential for proNGF-induced neuronal cell death". *Nature*, 427(6977):843-8.
31. Zhang, W., Liu, H.T. "MAPK signal pathways in the regulation of cell proliferation in mammalian cells". *Cell Res*, 12(1):9-18.
32. Sunters, A., Fernández de Mattos, S., Stahl, M., Brosens, J.J., Zoumpoulidou, G., Saunders, C.A., Coffer, P.J., Medema, R.H., Coombes, R.C., Lam, E.W. (2003). "FoxO3a transcriptional regulation of Bim controls apoptosis in paclitaxel-treated breast cancer cell lines". *J Biol Chem*, 12;278(50):49795-805.
33. Van Puyenbroeck, V., Claeys, E., Schols, D., Bell, T.W., Vermeire, K. (2017). "A Proteomic Survey Indicates Sortilin as a Secondary Substrate of the ER Translocation Inhibitor Cyclotriazadisulfonamide (CADA)". *Mol Cell Proteomics*,16(2):157-167.