ORIGINAL ARTICLE

Evaluation of the Anticancer Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) in Combination with 5-FU through the Modulation of Apoptosis-Related Gene Expression in the Colorectal Cancer Cell Line SW-742.

Mohammad Shokrzadeh [1,2]
Ramin Ataee[3,2],
Shaghayegh Aghajanshakeri [4],
Amirhossein Salmanmahiny [5]

[1] Professor, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences Sari, Iran
[2] Pharmaceutical Sciences Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Associate Professor, Medicinal Plants Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4] PhD in Toxicology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[5] Pharmacy Student, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received December 28, 2024; Accepted March 12, 2025)

Abstract

Background and purpose: 5-Fluorouracil (5-FU) is a commonly used chemotherapy drug for colorectal cancer; however, resistance to it has highlighted the need for new treatment strategies. This study aimed to evaluate the effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) in combination with 5-FU by assessing the expression of apoptotic (BAX, Bcl-2) and inflammatory genes (NF-κB) in human colorectal cancer cells (SW-742).

Materials and methods: In this experimental study, SW-742 cells were exposed to varying concentrations of 5-FU (1.56, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, and 100 µM) and CAPE (1, 5, 10, 20, 50, 100, and 200 µM) for 24 and 48 hours. Mixtures of the two compounds were also tested. Cell viability and IC50 were assessed Materials and Methods: In this experimental study, SW-742 cells were exposed to varying concentrations of 5-FU (1.56, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, and 100 µM) and CAPE (1, 5, 10, 20, 50, 100, and 200 µM) for 24 and 48 hours. Mixtures of the two compounds were also tested. Cell viability and IC50 were assessed using MTT assay. RT-PCR was employed to measure changes in the expression of apoptotic and inflammatory genes. Data were analyzed using Compusyn software and Prism Ver. 3 with one-way ANOVA.

Results: After 48 hours, a dose-dependent reduction in SW-742 cell viability was observed with combinations of 5-FU and CAPE. The Compusyn software analysis revealed a strong synergistic relationship between 5-FU and CAPE in the mixtures of 6.25 µM 5-FU (IC30) + 10 µM CAPE (IC10) and 6.25 µM 5-FU (IC30) + 20 µM CAPE. RT-PCR analysis showed that the combination of 6.25 µM 5-FU (IC30) + 10 µM CAPE (IC10) significantly increased BAX expression ($P< 0.001$) compared to both 6.25 µM 5-FU (IC30) alone ($P< 0.001$) and 10 µM CAPE (IC10) alone ($P< 0.001$). In contrast, Bcl-2 expression was significantly reduced ($P< 0.05$) compared to 10 µM CAPE (IC10) alone. Moreover, NF-κB expression was significantly lower in the combination treatment compared to both 6.25 µM 5-FU (IC30) alone ($P< 0.01$) and 10 µM CAPE (IC10) alone ($P< 0.01$).

Conclusion: This study demonstrated that 5-FU and CAPE act synergistically to reduce SW-742 colorectal cancer cell viability by modulating the expression of BAX, Bcl-2, and NF-κB. Given its antioxidant properties and synergistic potential, CAPE may enhance the effectiveness of 5-FU in colorectal cancer treatment.

Keywords: caffeic acid, phenethyl ester caffeic acid, 5-Fluorouracil, colorectal cancer, BAX, Bcl-2, NF-κB, cytotoxicity

J Mazandaran Univ Med Sci 2025; 35 (244): 65-77 (Persian).

Corresponding Author: Amirhossein Salmanmahiny - Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: Amirhsmahiny@gmail.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-08-01]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و پنجم شماره ۲۴۴ اردیبهشت سال ۱۴۰۴ (۷۷-۶۵)

ارزیابی اثرات ضدسرطانی فن اتیل استر کافئیک اسید (CAPE) به همراه 5-FU از طریق بیان ژن های دخیل در آپوپتوزیس بر رده سلولی سرطانی کولورکتال (SW-۷۴۲)

محمد شکرزاده [۱و۲]
رامین عطایی [۳و۲]
شقایق آقاجان شاکری [۴]
امیرحسین سلمان ماهینی [۵]

چکیده

سابقه و هدف: ۵-فلوئوروپیوراسیل (5-FU) دارویی پرکاربرد در درمان سرطان کولورکتال است که به دلیل افزایش مقاومت به شیمی‌درمانی نیاز به بهینه‌سازی اثر بخشی آن دارد. این مطالعه با هدف، ارزیابی اثرات هم‌افزای فن‌اتیل استر کافئیک اسید (CAPE) همراه با 5-FU بر بیان ژن‌های آپوپتوتیک (*BAX* و *Bcl-2*) التهابی (NF-κB) در سلول‌های سرطان کولورکتال SW-۷۴۲ بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، سلول‌های SW -۷۴۲ به غلظت‌های مختلف (5-FU از ۱/۵۶ تا ۱۰۰μM و CAPE از ۱ تا ۲۰۰ μM) تیمار شدند. عملکرد سلولی و IC_{50} با آزمون MTT، تغییرات بیان ژن‌ها با RT-PCR و سینرژیسم بین 5-FU و CAPE با نرم‌افزار Compusyn بررسی شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Prism Ver.3 و آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: 5-FU IC50 و CAPE پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون به ترتیب μM ۰/۸۶ ± ۲۸/۲۷ و μM ۵/۴۰ ± ۸۸/۸۹ اندازه‌گیری شد. عملکرد سلولی وابسته به دوز کاهش یافت. نرم‌افزار Compusyn نشان داد که در دو ترکیب μM ۶/۲۵ -5 (IC_{30}) FU + μM ۱۰ (IC_{10}) CAPE و μM ۶/۲۵ (IC_{30}) 5-FU + μM ۲۰ CAPE سینرژیسم وجود دارد. نتایج RT-PCR نیز نشان داد که ترکیب μM ۶/۲۵ (IC_{30}) 5-FU + μM ۱۰ (IC_{10}) CAPE قادر به افزایش قابل توجه (P<۰/۰۰۱) بیان *BAX* نسبت به μM ۶/۲۵ 5-FU تنها (P<۰/۰۰۱) و μM ۱۰ CAPE (P<۰/۰۰۱) تنها، کاهش قابل توجه بیان *Bcl-۲* نسبت به μM ۱۰ CAPE تنها (P<۰/۰۵) و کاهش قابل توجه بیان NF-κB نسبت به μM ۶/۲۵ 5-FU تنها (P<۰/۰۱) و μM ۱۰ CAPE تنها (P<۰/۰۱) بود.

استنتاج: ترکیب غلظت‌های خاصی از 5-FU و CAPE سینرژیسم قوی ایجاد کرده و می‌تواند عملکرد سلول‌های SW-۷۴۲ را کاهش دهد. این یافته‌ها امیدواری برای استفاده از CAPE در رژیم‌های شیمی درمانی سرطان کولورکتال به همراه 5-FU دارند.

واژه های کلیدی: کافئیک اسید، فن اتیل استر کافئیک اسید، ۵-فلوئوروپیوراسیل، سرطان کولورکتال، *BAX*، *Bcl-۲*، Nf-κB، سمیت سلولی

مولف مسئول: امیرحسین سلمان ماهینی-ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده داروسازی **E-mail:** Amirhsmahiny@gmail.com
۱. استاد، گروه سم شناسی و داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. مرکز تحقیقات علوم دارویی، موسسه هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. دانشیار، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۴. دکترای تخصصی سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۵. دانشجوی داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۴۰۳/۱۰/۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۴۰۳/۱۰/۹ تاریخ تصویب : ۱۴۰۳/۸/۲۲

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-08-01]

مقدمه

یکی از سرطان‌هایی با شیوع بالا در جهان، سرطان کولورکتال (CRC) است که به ترتیب سومین و چهارمین سرطان شایع در زنان و مردان ایرانی است(۱). روش‌های معمول درمان CRC شامل جراحی، پرتو درمانی و شیمی درمانی هستند که هر یک مزایا و معایب خاص خود را دارند(۱). ریسک فاکتورهای بروز CRC شامل پیری، جنس مذکر، رژیم غذایی حاوی چربی بالا، مصرف پایین فیبر و سبک زندگی غیر فعال است. حدود ۵۰ درصد مرگ و میرهای بیماران CRC به دلیل عود و متاستاز مجدد سرطان دو سال پس از درمان می‌باشد(۲). افرادی که از بیماری التهابی روده (IBD) و سرطان مرتبط با کولیت اولسراتیو (CAC) رنج می‌برند، نسبت به جمعیت عمومی بیش تر در معرض خطر سرطان کولورکتال (CRC) قرار دارند(۳). با پیش گرفتن یک سبک زندگی سالم‌تر مانند خودداری از مصرف الکل و تنباکو، رسیدن‌به وزن مناسب، شرکت در فعالیت‌های بدنی انتخاب رژیم غذایی حاوی مقادیر کم گوشت قرمز و مقادیر زیاد فیبر، میوه و سبزیجات در پیشگیری CRC می تواند موثر باشد(۴). در طول یک دوره پنج ساله، میزان بقا در بیماران Stage I حدود ۹۰ درصد برآورد می‌شود، در حالی که این میزان برای بیماران StageIV کم‌تر از ۵ درصد است. در بیش از ۷۰ درصد موارد شیوع، عوامل ژنتیکی و محیطی در انگیخته شدن سرطان CRC نقش دارند(۵). در سال ۲۰۱۸، با ۱٫۸ میلیون مورد شیوع جهانی و ۸۸۰,۰۰۰ کشته، CRC دومین کارسینوم مرگبار جهان است. در حال حاضر، راه حل منتخب برای مقابله با سرطان کولورکتال لوکالیزه و متاستاتیک، جراحی می‌باشد(۶). در حالی که شیمی درمانی هم‌چنان یکی از گزینه‌های درمانی ممکن برای سرطان کولورکتال (CRC) است، عوارض ناخواسته‌ای مانند انتخاب پذیری پایین و سمیت سیستمیک اثرات، درمانی و اثربخشی کلی داروها را مختل می‌کنند(۷). پس از بررسی داده‌های آماری مختلف، مشاهده شد که رابطه مستقیمی بین کاهش شانس بقا و تغییرات در بیان *Bcl* – ۲ و *BAX* وجود دارد، به طوری که بیان *Bcl*–۲ کاهش و بیان *BAX* افزایش می‌یابد(۲). CRC همچنان در دنیای غرب و به ویژه ایالات متحده شایع است. حدود ۵۰ درصد از بیمارانی که در آن ها با جراحی تومورها خارج شده اند، به دلیل بازگشت CRC به شکل مقاوم به درمان و متاستاتیک، فوت می‌کنند. یکی از دلایل اصلی بروز CRC متاستاتیک و مقاوم به شیمی درمانی، تشکیل تعداد کمی از سلول‌های بنیادی سرطان (سلول‌های مقاوم به شیمی‌درمانی و پرتو درمانی) (CSCs) است(۸). بازگشت سریع CRC پس از جراحی، شیمی درمانی یا پرتو درمانی امری کاملاً رایج است که فرآیند شناسایی و توسعه روش‌های جدید درمانی CRC را ضروری‌تر می‌کند(۹). افزایش موارد بروز CRC به «غربی‌سازی » روزافزون رژیم‌های غذایی و شیوه زندگی در کشورهای آسیایی و آفریقایی نسبت داده شده است. رژیم‌های شیمی درمانی برای درمان سرطان کولورکتال شامل FOLFOX (5-FU فولینیک اسید+ اگزالیپلاتین) و FOLFIRI (5-FU فولینیک اسید+ ایرینوتکان) است. با وجود گزینه‌های درمانی موجود، شانس عود بیماری هم‌چنان بالا باقی مانده است و بیش‌تر موارد عود شده دارای پیش آگهی ضعیفی هستند. بررسی و زیر ذره بین بردن مولکول‌هایی که مسئول بروز و پیشرفت سرطان هستند، می‌تواند به تشخیص دقیق‌تر، انتخاب درمان مناسب‌تر و مبارزه با مقاومت به شیمی درمانی کمک کند(۱۰).

رایج‌ترین داروی شیمی درمانی استفاده شده برای سرطان‌های گوارشی مانند سرطان معده، کولورکتال و پانکراس، 5-FU، یک آنتی متابولیت فلوئوروپیریمیدینی است(۱۱). این دارو سیتوتوکسیسیته خود را از طریق مهار آنزیم نوکلئوتید تیمیدلات سنتاز (TYMS) و همچنین از طریق وارد کردن فلوئورونوکلئوتیدها به RNA و DNA القا می‌کند(۱۲). نقطه ضعف برجسته 5-FU حذف سریع آن از جریان خون (فراهمی زیستی پایین) و نیمه

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-08-01]

عمر پلاسمایی کوتاه است. از نقاط ضعف دیگر 5-FU می‌توان به نیاز به دوز بالا و هدف‌گیری غیر اختصاصی آن اشاره کرد(۱۱). در حالی که 5-FU در ۴۰-۵۰ درصد بیماران CRC موفق بوده، اما در افزایش بقای بیماران (بدون بازگشت سرطان) تأثیر قابل توجهی نداشته است. به‌همین‌دلیل و دلایل مشابه، شناسایی روش‌های جدیدی برای افزایش اثربخشی 5-FU در طول دوره درمانی ضروری است(۱۳). هم‌چنین مشاهده شد که بخشی از بیماران CRC نسبت به شیمی درمانی با 5-FU مقاوم هستند و بیش‌تر بیماران سالم پس از درمان، مقاومت به 5-FU پیدا می‌کنند و این ضرورت نوآوری در روش مصرف 5-FU را حتی بیش‌تر می‌کند(۱۲).

یکی از ترکیبات فعال پروپولیس (رزین بی رنگ و بسیار چسبنده‌ای که توسط زنبورها از گیاهان جمع‌آوری می‌شود) CAPE (فن اتیل (۳-(۳،۴-دی هیدروکسی فنیل) اکریلات) یک ترکیب فنولی با پیوند استری است و این ترکیب به کمک نفوذپذیری بالای خود به راحتی می‌تواند وارد سلول ها شود(۱۴). گروه‌های هیدروکسیل در حلقه کاتکول CAPE باعث بسیاری از اثرات بیولوژیکی مختلف آن مانند فعالیت‌های ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضد ویروسی، ضد باکتریایی، سیستم ایمنی، ضد سرطانی و ترمیم زخم است(۱۵). بررسی‌های آزمایشگاهی (in vitro) نشان داده‌اند که CAPE اثرات ضد سرطانی بر سلول‌ها و تومورهای سرطان ریه، معده، کولورکتال، کبد، پانکراس، دهانه رحم و ملانوماهای بدخیم دارد(۱۶). CAPE سمیت قابل توجهی برای سلول‌های سالم در مقایسه با سلول‌های سرطانی ایجاد نمی‌کند و همین ویژگی آن را به یک کاندید عالی برای آینده درمان سرطان تبدیل می‌کند(۱۷). در مطالعه‌ای بر اثرات CAPE بر سلول‌های سرطان پستان مشاهده شد که مهار رشد سلول‌های سرطانی توسط CAPE ناشی از تأثیر آن بر فاکتور رونویسی هسته‌ای NF-κB است. هم‌چنین دیده شد که CAPE قادر است رشد سرطان پستان را از طریق مهار فاکتور رشد فیبروبلاست نوع ۲ (FGF-2) کاهش دهد(۱۶). با توجه به خواص آنتی اکسیدانی ترکیب CAPE و افزایش روزافزون مقاومت به داروی 5-FU در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال و به تبع آن نیاز به رژیم های شیمی درمانی نوین، این مطالعه به اثر ترکیب 5-FU+CAPE بر رده سلولی سرطان کولورکتال انسانی SW-۷۴۲، پرداخته است.

مواد و روش‌ها

کشت سلولی

در این مطالعه تجربی، با کد اخلاق IR.MAZUMS.REC.1402.348، رده سلولی SW-۷۴۲ از بانک سلولی ذخایر ملی ژنتیک خریداری و در روز اول در محیط کشت حاوی ۴۵ درصد مدیوم RPMI-1640، ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS) و ۱ درصد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین-استرپتومایسین کشت داده شد. سلول‌های کشت داده شده در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت کافی و ۵ درصد دی اکسید کربن قرار گرفتند. به منظور جداسازی کامل سلول‌های رشد یافته، پس از رسیدن به ۸۰-۷۰ درصد رشد سلولی، به آن‌ها تریپسین-اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) اضافه شده و به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۵۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند. مایع رویی خارج شده و به سلول‌های ته نشین شده ۵ mL محیط کشت کامل (۴۵ درصد مدیوم RPMI-1640 + ۱۰ درصد FBS + ۱ درصد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین-استرپتومایسین) اضافه و برای بهینه‌سازی رشد سلول‌ها ۱۰۰ µL L-Glutamine اضافه شد. برای بررسی میزان مصرف محیط کشت توسط سلول‌های در حال رشد، از معرف Phenol Red استفاده شد و با مصرف تدریجی آن، رنگ محیط از قرمز به زرد تغییر می‌کند. پس از روز اول و تغییر کامل رنگ مخلوط از قرمز به زرد، محیط کشت دور ریخته شده و از PhosphateBuffered Saline (PBS) برای پاک‌سازی مخلوط از سلول‌های مرده استفاده شد. برای جداسازی سلول‌های رشد کرده از کف فلاسک، از

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-08-01]

۲ mL تریپسین به مدت بین ۵ تا ۷ دقیقه استفاده می شود. هم‌چنین برای بهینه‌سازی فعالیت تریپسین، فلاسک در انکوباتور قرار داده می‌شود. پس از جداسازی سلول‌ها، برای خنثی سازی تریپسین، PBS اضافه می‌شود. سلول‌های جدا شده سانتریفیوژ شده تا فرم پلت (Pellet) پیدا کنند. پلت‌های سلولی در ۱ mL از Full Medium کاملا دیسپرس شد تا از سلول‌ها سوسپانسیون تهیه شود. برای تعیین درصد زنده بودن سلول‌های موجود در سوسپانسیون سلولی، نسبت یکسانی از تریپان بلو به سوسپانسیون سلولی اضافه می‌شود (از هر دو ۵۰µL). از ۱۰۰ µL ترکیب حاصل، ۱۰ µL برداشته شد و تعداد سلول‌های موجود در آن با لام هموسایتومتر و میکروسکوپ نوری شمرده می‌شود. بعد از اطمینان از زنده بودن بیش از ۹۰ درصد سلول‌ها و عدم آلودگی آن‌ها، برای انجام تست استفاده می‌شوند(۱۸).

ارزیابی سمیت سلولی

آزمون MTT، تبدیل تترازولیوم برمایـد زرد رنگ به کریستال های ارغوانی فورامازان در سلول های زنده توسط آنزیم‌های سوسکسینات تترازولیم ردوکتاز میتوکندریایی می‌باشد. در این واکنش احیای سلولی NADPH و NADH نقش دارند(۱۹). سلول‌های کشت شده در پلیت‌های ۹۶ خانه به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در معرض غلظت‌های مختلفی از 5-FU (۱/۵۶، ۳/۱۲۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ µM) و CAPE (۱، ۵، ۱۰، ۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ µM) قرار می گیرند تا IC_{50} آن ها مشخص شود. هدف از تعیین IC_{50}، مشخص کردن رنج غلظتی از دو ترکیب است که به تنهایی قادر به کاهش قابل توجه عملکرد سلولی سلول‌های SW-۷۴۲ نمی‌باشد. پس از مشخص‌سازی IC_{50} دو ترکیب، در پلیتی دیگر سلول‌ها در معرض غلظت‌های متفاوت از 5-FU + CAPE قرار می گیرند تا اثر ترکیب این دو ماده بر عملکرد سلولی مشخص شود. به هر چاهک پلیت ۹۶ خانه‌ای، ۱۰۰ µL محیط کشت حاوی 10^4 یا 10^5 عدد سلول اضافه شد (برای هر غلظت ۳ چاهک در نظر گرفته می‌شود) و به مدت ۲۴ الی ۴۸ ساعت در انکوباتور قرار داده می‌شوند. طی زمان انکوباسیون، از چگونگی رشد و عدم آلودگی سلول‌ها، اطمینان حاصل شد و پس از انکوباسیون، ترکیبات مورد مطالعه با غلظت‌های تعیین شده به چاهک‌های حاوی سلول‌های کشت داده شده اضافه می‌شوند (دور تا دور پلیت‌های ۹۶ خانه PBS ریخته شد تا از تجزیه ماده اصلی جلوگیری شود) و به مدت ۴۸ ساعت دیگر در انکوباتور قرار می گیرند. پس از ۴۸ ساعت با پیپت محیط کشت و سایر مواد افزوده شد را از چاهک‌ها جدا کرده و سلول‌ها ۳ بار با ۰,۵ mL نرمال سالین شستشو شدند. به هر چاهک ۲۰ µL محلول MTT اضافه کرده و پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای را به مدت ۴ ساعت درانکوباتور گذاشته شدند. سپس محلول MTT درون چاهک ها را خارج و ۱۵۰µL محلول DMSO به هر چاهک اضافه کرده و پلیت به مدت ۱۵ دقیقه میکس گردید تا کریستال‌های ارغوانی به حالت محلول در آیند. در انتهای هر آزمایش در هر چاهک ۱۰۰ µL محتویات قرار دارد (۹۰ µL سلول و محیط کشت + ۱۰µL ماده مورد مطالعه). پس از ۱۵ دقیقه و انحلال کامل فورمازان موجود در پلیت‌ها، با استفاده از دستگاه ELISA Reader جذب کلنی‌های سلولی رنگ گرفته در هر چاهک در طول موج ۵۷۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت و در انتها درصد زنده ماندن سلول‌ها محاسبه گردید.

استخراج ژن

مقداری از سلول‌های SW-۷۴۲ رشد یافته در فلاسک با کمک آنزیم تریپسین جداسازی کرده و پس از سانتریفیوژ و ته نشین شدن، در پلیت ۶ خانه کاشته شدند (در هر چاهک باید یک میلیون سلول وجود داشته باشد). بعد از ۲۴ ساعت سلول‌ها در معرض ترکیبات مورد مطالعه با غلظت‌های معین قرار گفتند. بعد از ۴۸ ساعت به هر چاهک ۱ mL ترایزول (Trizol)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-08-01]

اضافه شد. محتویات چاهک به یک میکروتیوب انتقال یافته و پس از ۱۰ دقیقه، µL ۲۰۰ کلروفرم به میکروتیوب اضافه شد تا محتویات داخل آن (DNA، RNA، و پروتئین) چند فازی شود (این مرحله Harvesting نام دارد). محتویات میکروتیوب به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده (۱۵۰۰۰G) و به سه فاز تقسیم شدند. مواد موجود در فاز انتهای میکروتیوب مورد نیاز مطالعه نیستند. فاز وسط حاوی DNA و پروتئین بوده و فاز رویی که حاوی RNA است با یک سمپلر برداشته شد و در یک میکروتیوب جدید ریخته شد. جهت شست و شوی RNA، هم حجم آن ایزوپروپیل الکل به میکروتیوب اضافه شده و مجددا سانتریفیوژ گردید (۱۵۰۰۰G به مدت ۱۵ دقیقه). بعد از سانتریفیوژ، RNA در انتهای میکروتیوب جمع شده و فاز رویی دور ریخته شد. سپس به میکروتیوب mL ۱ اتانول ۷۵ درصد افزوده و مجددا به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد (۷۵۰۰G) (مرحله سانریفیوژن هایی یک بار دیگر تکرار گردید).

بیان ژن

با توجه به در روش کار کیت استخراج RNA (محصول شرکت Roche آلمان) تعداد معینی سلول با مقداری محلول لیز ترکیب شده تا مواد وراثتی آزاد شود. پس از استخراج مواد وراثتی، برای اندازه گیری غلظت و میزان آلودگی RNA، نانودراپ‌های RNA استخراج یافته در طول موج ۲۸۰/۲۶۰ توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. دستگاه ترموسایکلر RNA را به Complementary DNA (cDNA) تبدیل می‌کند که به دلیل ناپایداری خود باید در یخ نگه داری شود. در کیت PCR ماده‌ای به نام PCR Master Mix وجود دارد که حاوی آنزیم‌های سازنده DNA از روی cDNA است. مجموعه مواد وراثتی تشکیل شده در دستگاه Real time-PCR قرار داده شد و برای رونویسی بخش مورد نظر از DNA باید از پرایمر اختصاصی استفاده شود. به ترتیب مراحل Unwinding، Annealing و Taq enzyme translation انجام شد و در میان دو رشته‌های DNA ساخته شده SYBR Green قرار می‌گیرد. با هر سیکل، تجمع مواد وراثتی مورد نظر و به دنبال آن میزان فلوئورسانس بیش‌تر می‌شود. در نهایت تعداد سیکل‌های PCR لازم برای ایجاد تفاوت قابل ملاحظه در میزان فلوئورسانس خوانده شده بررسی می‌شود که Cycle Threshold Value (CT Value) نام دارد. هر چقدر میزان CT Value بیش‌تر باشد، نشان می‌دهد مقدار ژن مورد نظر در Template اولیه کم‌تر بوده و بلعکس و در نهایت در دمای مد نظر به بررسی مقدار بیان ژن‌های دخیل در آپوپتوزیس و التهاب در مقایسه با ژن GAPDH پرداخته می شود (تصویر شماره ۱)(۲۰).

Primer sequence for use in reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction

Primer name	Sequence (5'–3')	Primer length (bp)	Product length (bp)
Bax F	TCTGACGGCAACTTCAACTG	20	124
Bax R	CCAATGTCCAGCCCATGATG	20	
BCL-2 F	TGTGTGTGGAGAGCGTCAAC	20	175
BCL-2 R	AGCCAGGAGAAATCAAACAGAGG	23	
NF-κB F	CTCTGTGTTTGTCCAGCTTCG	21	123
NF-κB R	GGCATGAGCTTCTGACGTTTC	21	

تصویر شماره ۱: نام، توالی و طول پرایمر های اختصاصی استفاده شده در فرآیند qPCR به همراه طول محصول

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-08-01]

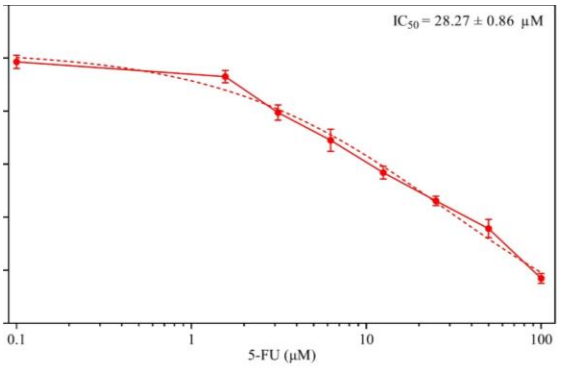
تجزیه و تحلیل آماری

کلیه محاسبات آماری برای مقایسه IC_{50} ها با نرم‌افزار آماری Prism Ver.3 و به روش رگرسیون غیر خطی (Nonlinear Regression) انجام شد و مقایسه داده‌ها با روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و Post test مربوطه (Tukey- Kramer multiple comprehension test) صورت گرفت. نمودارها توسط همین برنامه گرافیکی رسم شد. به منظور آنالیز رابطه بین 5-FU و CAPE از نرم‌افزار Compusyn استفاده شد. در این مطالعه شاخص معنی‌داری (P<۰/۰۵) می‌باشد.

یافته‌ها

تعیین میزان IC_{50} داروی 5-FU

سلول‌های SW-۷۴۲ در معرض غلظت‌های ۱,۵۶، ۳/۱۲۵، ۳/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، و ۱۰۰ µM از 5-FU قرار گرفتند. با توجه به نمودار شماره ۱، مشاهده شد که سمیت سلولی ناشی از 5-FU با افزایش دوز، شدت قابل ملاحظه‌ای پیدا می‌کند و IC_{50} داروی 5-FU هنگام مواجه شدن با رده سلولی SW-۷۴۲ به مدت ۴۸ ساعت، ۲۸,۲۷ ± ۰,۸۶ µM است.



نمودار شماره ۱: نمودار محاسبه IC_{50} داروی 5-FU بر عملکرد سلول‌های کولورکتال SW-۷۴۲

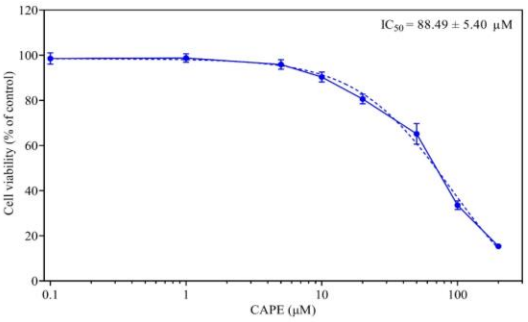
تعیین میزان IC_{50} ترکیب CAPE

سلول‌های SW-۷۴۲ در معرض غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ µM از CAPE قرار گرفتند.

با توجه به نمودار شماره ۲، مشاهده شد که میزان سمیت سلولی ناشی از CAPE در رنج غلظتی ۷۰ µM- ۸۰ افزایش قابل ملاحظه‌ای پیدا می‌کند و IC_{50} ترکیب CAPE هنگام مواجه شدن با رده سلولی SW-۷۴۲ به مدت ۴۸ ساعت، ۸۸/۴۹ ± ۵/۴۰ µM است.

اثر CAPE به همراه 5-FU بر میزان عملکرد سلولی سلول‌های سرطانی کولورکتال SW-۷۴۲

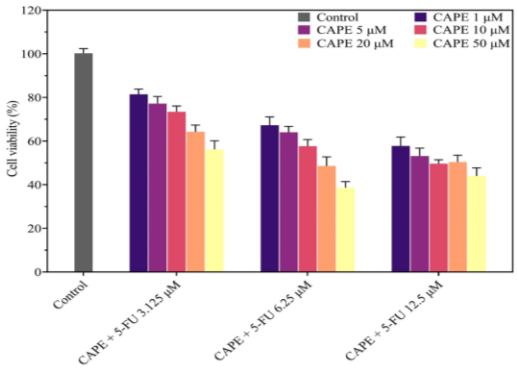
سلول‌های SW-۷۴۲ بر اساس غلظتی از 5-FU که در معرض قرار گرفتند، به ۴ دسته کلی تقسیم شدند و هر گروه با ۵ دوز متفاوت از CAPE ترکیب شد. گروه‌ها شامل، گروه کنترل، گروه سلول‌های در معرض µM ۳/۱۲۵ 5-FU + CAPE با غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۲۰، و ۵۰ µM، گروه سلول‌های در معرض µM ۶/۲۵ 5-FU + CAPE با غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۲۰، و ۵۰ µM و گروه سلول‌های در معرض µM ۱۲,۵ 5-FU + CAPE با غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۲۰، و ۵۰ µM، می‌باشد.



نمودار شماره ۲: نمودار محاسبه IC_{50} CAPE بر عملکرد سلول های کولورکتال SW-۷۴۲

با توجه به نمودار شماره ۳، میزان عملکرد سلول‌های SW-۷۴۲ به صورت وابسته به دوز با افزایش میزان 5-FU کاهش پیدا کرد. هم‌چنین داخل هر گروه میزان عملکرد سلولی به صورت وابسته به دوز با افزایش غلظت CAPE کاهش پیدا کرد (به جز یک استثنا µM ۱۲/۵ 5-FU + CAPE ۲۰µM که با افزایش دوز CAPE از ۱۰ به ۲۰ µM میزان سمیت سلولی ناشی از ترکیب کاهش پیدا کرد).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-08-01]



نمودار شماره ۳: اثر 5-FU در غلظت های ۳/۱۲۵، ۶/۲۵ و ۱۲/۵ μM به همراه CAPE در غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۵۰ μM بر میزان عملکرد سلول‌های کولورکتال SW-۷۴۲

نتایج آنالیز رابطه بین دو ترکیب 5-FU و CAPE توسط نرم افزار Compusyn

با توجه به تصویر شماره ۲، در دو حالت ۳/۱۲۵ μM 5-FU + CAPE ۵۰ μM و ۱۲/۵ μM 5-FU + CAPE ۵۰ μM شاخص CI به ترتیب ۱/۱۵۱۱۳۲ و ۱/۲۱۳۶۶ می‌باشد که طبق رنج‌های تعریف شده توسط نرم‌افزار Compusyn این دو حالت به ترتیب آنتاگونیسم خفیف (Slight Antagonism) و آنتاگونیسم متوسط (Moderate Antagonism) توصیف شده اند. مشاهده شد هنگامی که CAPE به غلظت ۵۰ μM می‌رسد، اثرات سایتوپروتکتیو آن بر سایتوتوکسیسیته‌اش غلبه کرده و حتی تا اندازه ای اثرات سایتوتوکسیک 5-FU را نیز مهار می‌کند. این اثر حتی با مقایسه دو ترکیب ۶/۲۵ μM 5-FU + ۲۰ μM CAPE و ۶/۲۵ μM 5-FU + ۵۰ μM CAPE نیز مشاهده می‌شود که با افزایش غلظت CAPE از ۲۰ μM به ۵۰ μM، رابطه بین 5-FU و CAPE از سینرژیسم (Synergism) به سنرژیسم متوسط (Moderate Synergism) تغییر می‌کند. به جز دو ترکیب ذکر شده در تمامی ترکیب‌های دیگر حاصل از ترکیب 5-FU و CAPE، رابطه بین این دو ماده در رنج سینرژیسم (Synergism) تا تقریبا افزایشی (Nearly Additive) است. به طور دقیق تر دو ترکیب ۶/۲۵ μM 5-FU (IC_{30}) + ۱۰ μM CAPE (IC_{10}) و ۶,۲۵ μM 5-FU (IC_{30}) + ۲۰ μM CAPE حالاتی هستند که به‌طور قطعی رابطه بین 5-FU و CAPE سینرژیستیک است (شاخص CI در این دو حالت به ترتیب ۰/۶۷۲۰۰ و ۰/۶۱۳۰۰ محاسبه شد).

اثرات ۶/۲۵ μM 5-FU (IC_{30}) + ۱۰ μM CAPE (IC_{10}) بر بیان ژن‌های دخیل در آپوپتوزیس سلول‌های سرطانی کولورکتال SW-۷۴۲

با توجه به نمودار شماره ۴، در گروه در معرض ۶/۲۵ μM 5-FU (IC_{30}) + ۱۰ μM CAPE (IC_{10}) میزان بیان BAX افزایش بسیار قابل ملاحظه‌ای نسبت به گروه ۶/۲۵ μM 5-FU (IC_{30}) تنها ($P<0/001$) و ۱۰μM CAPE (IC_{10}) تنها ($P<0/001$) داشت. هم‌چنین در گروه ۶/۲۵ μM 5-FU (IC_{30}) + ۱۰ μM CAPE (IC_{10}) بیان *Bcl-۲* کاهش قابل ملاحظه‌ای نسبت به گروه ۱۰μM CAPE (IC_{10}) تنها ($P<0/05$) داشت.

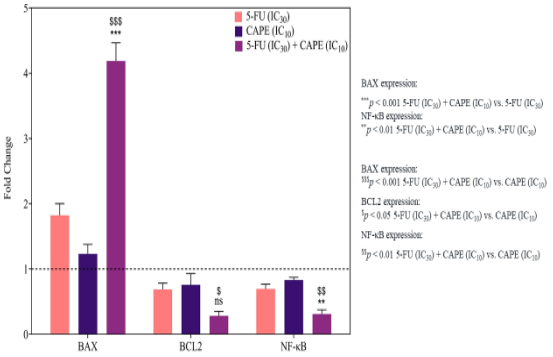
CI Data for Combination treatment in Compusyn Software

Dose 5FU	Dose CAPE	Effect	CI
3.125	1.0	0.185	0.91367
3.125	5.0	0.228	0.86860
3.125	10.0	0.265	0.89897
3.125	20.0	0.357	0.85019
3.125	50.0	0.438	1.21366
6.25	1.0	0.327	0.76095
6.25	5.0	0.359	0.75641
6.25	10.0	0.423	0.67200
6.25	20.0	0.514	0.61300
6.25	50.0	0.613	0.73558
12.5	1.0	0.422	0.94839
12.5	5.0	0.468	0.84276
12.5	10.0	0.503	0.80293
12.5	20.0	0.496	0.99046
12.5	50.0	0.56	1.15132

Range of CI	Description	Symbol
< 0.1	Very strong synergism	
0.1-0.3	Strong synergism	
0.3-0.7	Synergism	
0.7-0.85	Moderate synergism	
0.85-0.90	Slight synergism	
0.90-1.10	Nearly additive	
1.10-1.20	Slight antagonism	
1.20-1.45	Moderate antagonism	
1.45-3.3	Antagonism	
3.3-10	Strong antagonism	
>10	Very strong antagonism	

تصویر شماره ۲: بررسی اثرات ناشی از ترکیب غلظت های مختلف از 5-FU و CAPE به کمک نرم افزار Compusyn

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-08-01]



نمودار شماره ٤: اثرات (IC30) 5-FU به همراه (IC10) CAPE بر بیان ژن‌های دخیل در التهاب سلول‌های کولورکتال (SW-۷۴۲)، ***(P<۰/۰۰۱): معنی‌داری تفاوت میزان بیان ژن *BAX* در گروه ۶/۲۵ µM CAPE (IC10) ۱۰ µM + 5-FU (IC30) نسبت به گروه ۶/۲۵ µM 5-FU (IC30)، **(P<۰/۰۱): معنی‌داری تفاوت میزان بیان ژن *NF-κB* در گروه ۶/۲۵ µM CAPE (IC10) ۱۰ µM + 5-FU (IC30) نسبت به گروه ۶/۲۵ µM 5-FU (IC30)، $$$(P<۰/۰۰۱): معنی‌داری تفاوت میزان بیان ژن *BAX* در گروه ۶/۲۵ µM 5-FU (IC30) + ۱۰ µM CAPE (IC10) نسبت به گروه ۱۰µM CAPE (IC10)، $$(P<۰/۰۱): معنی‌داری تفاوت میزان بیان ژن *NF-κB* در گروه ۶/۲۵ µM 5-FU (IC30) + ۱۰ µM CAPE (IC10) نسبت به گروه ۱۰µM CAPE (IC10)، $(P<۰/۰۵): معنی‌داری تفاوت میزان بیان ژن *Bcl-۲* در گروه ۶/۲۵ µM 5-FU (IC30) + ۱۰ µM CAPE (IC10) نسبت به گروه ۱۰µM CAPE (IC10)، ns: عدم معنی‌داری تفاوت میان میزان بیان ژن *Bcl-۲* در گروه ۶/۲۵ µM 5-FU (IC30) + ۱۰ µM CAPE (IC10) نسبت به گروه ۶/۲۵ µM 5-FU (IC30)

اثرات ۶/۲۵ µM 5-FU (IC30) + ۱۰ µM CAPE (IC10) *بر بیان ژن دخیل در التهاب سلول‌های سرطانی کولورکتال* SW-۷۴۲

همان‌طور که در نمودار شماره ۴ مشاهده گردید، در گروه ۶/۲۵ µM 5-FU (IC30) + ۱۰µM CAPE (IC10) میزان بیان *NF-κB* کاهش قابل ملاحظه‌ای نسبت به گروه ۶/۲۵ µM 5-FU (IC30) تنها (P<۰/۰۱) و ۱۰µM CAPE (IC10) تنها (P<۰/۰۱) داشت.

بحث

هدف از این مطالعه، مشخص کردن اثر ترکیب داروی 5-FU و CAPE و اثر هم افزای بین آن ها در هنگام مواجهه با سلول‌های سرطانی کولورکتال رده SW-۷۴۲، از طریق بررسی میزان فعال‌سازی ژن‌های آپوپتوتیک (*BAX* و *Bcl-۲*) و التهاب (NF-κB) بود. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که پس از قراگیری در معرض سلول‌های SW-۷۴۲ با ترکیب ۶/۲۵ µM 5-FU (IC30) + ۱۰ µM CAPE (IC10) بیان ژن *BAX* افزایش قابل ملاحظه و بیان ژن‌های *Bcl-۲* و *NF-κB* کاهش قابل ملاحظه‌ای نسبت به گروه‌های ۶/۲۵ µM 5-FU (IC30) تنها و ۱۰µM CAPE (IC10) تنها پیدا کرد.

در مطالعه Sameni و همکاران به بررسی اثر ترکیب عصاره بره موم (حاوی CAPE) و 5-FU بر سرطان کولورکتال انگیخته شده با آزوکسی متان در موش‌های BALB/c پرداختند. آن‌ها مشاهده کردند که در گروه‌های تیمار شده با ترکیب عصاره پروپولیس و 5-FU میزان COX-2، iNOS، β-کاتنین، ضایعات پاتولوژیک و Aberrant crypt foci (ACI) به صورت قابل توجهی نسبت به گروه‌های کنترل و گروه 5-FU تنها کاهش یافت. Sameni و همکاران به این نتیجه رسیدند که از ترکیبات داخل پروپولیس می‌توان به عنوان یک عامل جانبی برای افزایش اثرگذاری 5-FU بر سرطان کولورکتال استفاده کرد که این نتیجه هم راستا با نتایج مطالعه حاضر است که نشان از قدرت قابل توجه CAPE (یکی از اجزای پروپولیس) در تقویت اثر 5-FU علیه سلول‌های سرطانی دارد(۱).

در مطالعه Falcão و همکاران در سال ۲۰۲۳ به بررسی سمیت سلولی ناشی از ترکیب انواع مختلف بره‌موم سبز، قرمز و قهوه‌ای، با 5-FU یا Fluphenazine در سلول‌های سرطان کولورکتال HT-۲۹ به صورت in-vitro پرداخته شد. آن‌ها نتیجه گرفتند که به طور کلی تمام انواع بره‌موم، قادر به تقویت اثر ضد سرطانی FU-۵ علیه سلول‌های HT-۲۹ می‌باشند و رابطه بین 5-FU و انواع پروپولیس مورد مطالعه سینرژیستیک می‌باشد که این نتیجه با نتیجه حاصل از مطالعه حاضر در خصوص وجود سینرژیسم بین CAPE (یکی از اجزای پروپولیس) و 5-FU هم راستا می‌باشد(۲۱).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-08-01]

در مطالعه ای در سال ۲۰۲۱، Colpan و Erdemir به بررسی اثرات ضد سرطانی نانو ذرات پلی لاکتیک کوگلیکولیک اسید (PLGA) بارگذاری شده با کوئرستین و CAPE (QuCaNP) بر سلول های سرطانی کولورکتال HT-۲۹ پرداختند. آن‌ها مشاهده کردند که غلظت مهاری QuCaNP در تیمار ۲۴ ساعته و ۴۸ ساعته سلول‌های HT-۲۹ به ترتیب ۱۱/۲ µg/mL و ۸,۲ µg/mL است و نانوذرات QuCaNP به صورت قابل ملاحظه عمکلرد، مهاجرت و تکثیر سلولی را کاهش داده بودند. هم‌چنین مشاهده کردند که میزان فعالسازی مسیر آپوپتوز میتوکندری در سلول‌های HT-۲۹ بعد از تیمار با QuCaNP به صورت قابل ملاحظه افزایش پیدا می‌کند. Colpan و Erdemir نتیجه گرفتند که QuCaNPهای حاوی کوئرستین و CAPE با افزایش آپوپتوزیس قادر به مهار بهینه سلول‌های سرطانی HT-۲۹ می‌باشد که این نتیجه با مطالعه حاضر در خصوص فعالیت ضد سرطانی CAPE، همسو است. لازم به ذکر است که Colpan و Erdemir دلیل اصلی فعالیت ضد سرطانی QuCaNP ها را افزایش فعالسازی Caspase-2 (۲/۳۸ برابر)، Caspase-9 (۲ برابر) و تغییر در میزان تولید پروتئین‌های حیاتی اعلام کردند در حالی که مطالعه حاضر بر تغییرات در بیان ژن های *BAX*، *Bcl-۲* و *Nf-κB* تمرکز داشت(۲۲).

در سال ۲۰۲۲، Amalia و همکاران به بررسی اثرات ترکیب CAPE بر سلول‌های سرطان سینه رده MCF-۷ به صورت تنها و به صورت ترکیبی با 5-FU پرداختند. Amalia و همکاران مشاهده کردند که پس از تیمار ۲۴ و ۴۸ ساعته سلول‌های MCF-۷ با CAPE غلظت‌های مهاری به ترتیب ۶/۶ ± ۱/۰ µM و ۶/۵ ± ۲/۹ µM می‌باشد در حالی که 5-FU به صورت تنها از خود فقط اثرات Cytostatic بروز می‌دهد. هم‌چنین مشاهده کردند که تیمار کردن سلول‌های MCF-۷ با ترکیب‌های غلظتی مختلف از 5-FU + CAPE (با نسبت ۱ به ۱۰) باعث افزایش قابل ملاحظه مرگ سلولی از طریق القای آپوپتوز، افزایش بیان *Caspase-8* و *BAX* در ۶ ساعت اول نسبت به 5-FU تنها می‌شود. در تیمار ۲۴ ساعته 5-FU+CAPE اثرات سینرژیستیک با CL=۰/۵ و در تیمار ۴۸ ساعته اثرات افزایشی با CL=۱/۰ نشان می دهد. هم‌چنین در این مطالعه CAPE (با غلظت مهاری µM ۱۲۰/۷ ± ۶/۸) نیز موفق به مهار آنزیم Human Dihydroorotate Dehydrogenase (HsDHODH) شد که به عنوان مکانیسم جدیدی در مهار سلول‌های MCF-۷ ثبت گردید. در نهایت، Amalia و همکاران نتیجه گرفتند که CAPE و مشتقات آن می‌تواند به همراه 5-FU گزینه مناسبی برای مدیریت و درمان سرطان سینه باشند که این نتیجه هم راستا با نتیجه مطالعه حاضر در خصوص وجود یک پتانسیل برای سینرژیسم بین 5-FU و CAPE و افزایش میزان آپوپتوزیس با فعالسازی بیش تر *BAX* در سلول‌های سرطانی می باشد(۲۳).

در سال ۲۰۲۲، Fu و همکاران به بررسی اثر ترکیب Docetaxel و CAPE علیه تکثیر و بقای سلول‌های سرطان پروستات مقاوم به دوستاکسل پرداختند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که ترکیب Docetaxel و CAPE قادر است به صورت قابل ملاحظه‌ای تکثیر و بقای سلول‌های سرطان پروستات مقاوم به Docetaxel را با مهار *Bcl-۲*، *c-Myc* و ایجاد اختلال در متابولیسم سرکوب کند که این نتیجه با نتیجه مطالعه حاضر در خصوص اثرات ضد سرطانی CAPE و پتانسیل آن به عنوان یک عامل کمکی در مواجهه با سرطان هم سو است. هم‌چنین در این مطالعه مانند مطالعه حاضر، یکی از ژن‌های مورد بررسی *Bcl-۲* بود که همانند نتایج حاصل از تحقیق حاضر، میزان بیان آن در سلول‌های سرطانی پس از مواجه شدن با CAPE به صورت قابل توجهی کاهش یافت(۲۴).

در سال ۲۰۲۴، Fosu و همکاران در مطالعه ای به آنالیز اثرات CAPE بر التهاب و نشانگرهای متاستاتیک القا شده توسط TNF-α یا Doxorubicin در Triple Negative Breast Cancer پرداختند. آن‌ها به این نتیجه

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-08-01]

رسیدند که CAPE قادر است التهاب ناشی از شیمی درمانی را با کاهش بیان ژن‌های پیش التهابی تنظیم شده توسط *NF-κB* شامل IL-1B، IL-6، IL-8 و TNF-α سرکوب کند. نتیجه این مطالعه با مطالعه حاضر در خصوص اثرات مهاری CAPE بر بیان ژن *Nf-κB* در سلول‌های سرطانی هم راستا می‌باشد(۲۵).

اشاره شده است که CAPE ترکیبی است با اثرات ضد تکثیری و آپوپتوتیک در سلول‌های سرطانی و در عین حال اثرات ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی در سلول‌های سالم می‌باشد(۲۶). نتیجه گیری کلی در مطالعه حاضر این است که CAPE به کمک توانایی خود در برقراری رابطه سینرژیسم با داروی 5-FU و تغییر دادن بیان ژن‌های دخیل در آپوپتوز و التهاب، می تواند در آینده رژیم‌های شیمی درمانی سرطان کولورکتال جایگاهی داشته باشد. با توجه به افزایش روزافزون مقاومت بیماران سرطانی به داروی 5-FU و کاهش اثرگذاری این دارو حتی در رژیم‌های ترکیبی، پیشنهاد می‌شود که در مطالعات آینده، پژوهشگران به بررسی قدرت CAPE در افزایش اثرگذاری و کاهش عوارض FU-۵ در دوز Therapeutic و مطالعه‌ای بالینی بپردازند.

سپاسگزاری

این مقاله با کد اخلاق IR.MAZUMS.REC.1402.348، برگرفته از پایان نامه امیرحسین سلمان ماهینی دانشجوی داروسازی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مازندران می باشد. از همکاری معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران در حمایت از این طرح تشکر می گردد.

References

1. Sameni HR, Yosefi S, Alipour M, Pakdel A, Torabizadeh N, Semnani V, Bandegi AR. Co-administration of 5FU and propolis on AOM/DSS induced colorectal cancer in BALB-c mice. Life Sci 2021; 276: 119390. PMID: 33794252.
2. Tang H, Yao X, Yao C, Zhao X, Zuo H, Li Z. Anti-colon cancer effect of caffeic acid p-nitro-phenethyl ester in vitro and in vivo and detection of its metabolites. Sci Rep 2017; 7(1): 7599.
3. Dai G, Jiang Z, Sun B, Liu C, Meng Q, Ding K, et al. Caffeic Acid Phenethyl Ester Prevents Colitis-Associated Cancer by Inhibiting NLRP3 Inflammasome. Front Oncol 2020; 10: 721.
4. Herrera Ramirez A, Yepes-Pérez AF, Quintero-Saumeth J, Moreno Quintero G, Naranjo T, Cardona-G W. 2022.
5. Guffey CR, Fan D, Singh UP, Murphy EA. Linking obesity to colorectal cancer: recent insights into plausible biological mechanisms. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2013; 16(5): 595-600. PMID: 23743611.
6. Vodenkova S, Buchler T, Cervena K, Veskrnova V, Vodicka P, Vymetalkova V. 5-fluorouracil and other fluoropyrimidines in colorectal cancer: Past, present and future. Pharmacol Ther 2020; 206: 107447. PMID: 31756363.
7. Chen C, Kuo YH, Lin CC, Chao CY, Pai MH, Chiang EI, Tang FY. Decyl caffeic acid inhibits the proliferation of colorectal cancer cells in an autophagy-dependent manner in vitro and in vivo. PLoS One 2020; 15(5): e0232832. PMID: 32401800.
8. Park SR, Kim SR, Hong IS, Lee HY. A Novel Therapeutic Approach for Colorectal Cancer Stem Cells: Blocking the PI3K/Akt Signaling Axis With Caffeic Acid. Front Cell Dev Biol 2020; 8: 585987. PMID: 33425893.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-08-01]

9. Li L, Li C, Zhou J. Effective sustained release of 5-FU-loaded PLGA implant for improving therapeutic index of 5-FU in colon tumor. Int J Pharm 2018; 550(1-2): 380-387. PMID: 30040972.
10. Nishida N, Yamashita S, Mimori K, Sudo T, Tanaka F, Shibata K, et al. MicroRNA-10b is a prognostic indicator in colorectal cancer and confers resistance to the chemotherapeutic agent 5-fluorouracil in colorectal cancer cells. Ann Surg Oncol 2012; 19(9): 3065-3071. PMID: 22322955.
11. Yusefi M, Lee-Kiun MS, Shameli K, Teow SY, Ali RR, Siew KK, et al. 5-Fluorouracil loaded magnetic cellulose bionanocomposites for potential colorectal cancer treatment. Carbohydr Polym 2021; 273: 118523. PMID: 34560940.
12. Xie T, Geng J, Wang Y, Wang L, Huang M, Chen J, et al. FOXM1 evokes 5-fluorouracil resistance in colorectal cancer depending on ABCC10. Oncotarget 2016; 8(5): 8574. PMID: 28051999.
13. Cho YH, Ro EJ, Yoon JS, Mizutani T, Kang DW, Park JC, et al. 5-FU promotes stemness of colorectal cancer via p53-mediated WNT/beta-catenin pathway activation. Nat Commun 2020; 11(1): 5321. PMID: 33087710.
14. Koraneekit A, Limpaiboon T, Sangka A, Boonsiri P, Daduang S, Daduang J. Synergistic effects of cisplatin-caffeic acid induces apoptosis in human cervical cancer cells via the mitochondrial pathways. Oncol Lett 2018; 15(5): 7397-7402. PMID: 29731891.
15. Acar T, Arayici PP, Ucar B, Coksu I, Tasdurmazli S, Ozbek T, Acar S. Host-Guest Interactions of Caffeic Acid Phenethyl Ester with beta-Cyclodextrins: Preparation, Characterization, and In Vitro Antioxidant and Antibacterial Activity. ACS Omega 2024; 9(3): 3625-3634. PMID: 38284065.
16. Kabala-Dzik A, Rzepecka-Stojko A, Kubina R, Jastrzebska-Stojko Z, Stojko R, Wojtyczka RD, Stojko J. Migration Rate Inhibition of Breast Cancer Cells Treated by Caffeic Acid and Caffeic Acid Phenethyl Ester: An In Vitro Comparison Study. Nutrients 2017; 9(10). PMID: 29048370.
17. Chen H, Guan Y, Baek SJ, Zhong Q. Caffeic Acid Phenethyl Ester Loaded in Microemulsions: Enhanced In Vitro Activity against Colon and Breast Cancer Cells and Possible Cellular Mechanisms. Food Biophysics 2018; 14(1): 80-89.
18. Azari A, Eslami M, Mohammadpour A, Shokrzadeh M. Evaluation of the Protective Effect of Quercetin on Normal Ovary Cells Viability Induce by Clomiphene Citrate and Correlation with p53 Gene Expression. J Mazand Univ Med Sci 2024; 34(234): 48-60.
19. Razavi SMA, Shokrzadeh M, Aghajanshakeri S, Ataee R. Evaluation of Synergic Effect of Nano-Micelle Curcumin and Epicatechin on Apoptosis and Proliferation of HT29 Colorectal Cancer Cell Line. J Mazand Univ Med Sci 2024; 34(235): 13-25.
20. Ashari S, Naghsh N, Salari Y, Barghi NG, Bagheri A. Dimethyl fumarate attenuates di-(2-ethylhexyl) phthalate-induced nephrotoxicity through the Nrf2/HO-1 and NF-κB signaling pathways. Inflammation 2023; 46(1): 453-467. PMID: 36195817.
21. Falcão SI, Duarte D, Diallo M, Santos J, Ribeiro E, Vale N, Vilas-Boas M. Improvement of the in vitro cytotoxic effect on HT-29 colon cancer cells by combining

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-08-01]

5-fluorouacil and fluphenazine with green, red or brown propolis. Molecules 2023; 28(8): 3393. PMID: 37110626.

22. Colpan RD, Erdemir A. Co-delivery of quercetin and caffeic-acid phenethyl ester by polymeric nanoparticles for improved antitumor efficacy in colon cancer cells. J Microencapsul 2021; 38(6): 381-393. PMID: 34189998.
23. Amalia E, Diantini A, Endang Prabandari E, Waluyo D, Subarnas A. Caffeic Acid Phenethyl Ester as a DHODH Inhibitor and Its Synergistic Anticancer Properties in Combination with 5-Fluorouracil in a Breast Cancer Cell Line. J Exp Pharmacol 2022; 14: 243-253. PMID: 35910085.
24. Fu Y-K, Wang B-J, Tseng J-C, Huang S-H, Lin C-Y, Kuo Y-Y, et al. Combination treatment of docetaxel with caffeic acid phenethyl ester suppresses the survival and the proliferation of docetaxel-resistant prostate cancer cells via induction of apoptosis and metabolism interference. J Biomed Sci 2022; 29(1): 16. PMID: 35197069.
25. Fosu K, Quarshie JT, Offei NA, Serwaa A, Tuah B, Sobo AK, et al. Caffeic Acid Phenethyl Ester Suppresses Cytokine-and Chemotherapy-Induced Inflammation in Triple-Negative Breast Cancer via NF-κB Signalling. Nat Prod Commun 2024; 19(11): 1934578X241298830.
26. Prades-Sagarra E, Laarakker F, Dissy J, Lieuwes N, Biemans R, Dubail M, et al. Caffeic acid Phenethyl Ester (CAPE), a natural polyphenol to increase the therapeutic window for lung adenocarcinomas. Radiother Oncol 2024; 190: 110021. PMID: 38000688.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-08-01]