

Antitumor Activity of Zataria multiflora Boiss. and Taxus baccata L. Leaf Extracts Compared with Vincristine: A Potato Disc Assay

Fatemeh Akbari^{1,2}
Somaieh Skandari³
Mohtaram Nasrollahi⁴
Mohammad Ramezani⁵
Allireza Khalilian⁶
Mohammad Azadbakht⁷
Fezeh Fathi³

¹ .Assistant professor, Research Center of Physiology, Neuroscience Research Institute, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

² Assistant professor, School of Pharmacy, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

³ Pharm D, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Professor, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁵ Professor, Department of Biotechnology, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

⁶ Professor, Department of Biostatistics, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁷ Professor Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received December 23, 2026; Accepted August 21, 2026)

Abstract

Background and purpose: The potato disc assay is a well-established method for preliminary screening of compounds with potential antitumor activity, based on their ability to inhibit crown gall tumor formation induced by *Agrobacterium tumefaciens*. The present study aimed to compare the inhibitory effects on crown gall tumor formation of leaf extracts from *Zataria multiflora* and *Taxus baccata* with that of the reference drug vincristine.

Materials and methods: In this experimental study, healthy potatoes were surface-sterilized using 1% sodium hypochlorite and cetrimide, then aseptically cut into uniform discs and placed on 1.5% agar medium. A suspension of *A. tumefaciens* was mixed with varying concentrations of the plant extracts (0.1, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, and 2.5 mg/mL) and inoculated onto the discs. The discs were incubated at 25 °C for 12–21 days. After incubation, crown gall tumors on each disc were counted, and the percentage of tumor-growth inhibition relative to the negative control was calculated. Statistical analyses were performed to determine differences between groups.

Results: The leaf extract of *T. baccata* exhibited significant inhibitory activity against crown gall tumor formation at all tested concentrations. In contrast, *Z. multiflora* extract showed a significant inhibitory effect only at 2 mg/mL, with negligible activity at lower concentrations.

Conclusion: Based on these findings, *Taxus baccata* extract showed greater inhibitory activity against crown gall tumor formation, whereas the effects of *Zataria multiflora* extract were limited and concentration-dependent. These results support further investigation using cellular and in vivo models to determine whether these plant extracts have antitumor potential.

Keywords: tumor inhibitor, *Zataria multiflora*, *Taxus baccata*, vincristine, potato disc assay

J Mazandaran Univ Med Sci 2026; 36 (260): 7-17 (Persian).

Corresponding Author: Mohammad Azadbakht - Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
(E-mail: azadbakht110@gmail.com)

اثر ضد توموری عصاره‌های برگ *Zataria multiflora* Boiss و *Taxus baccata* L در مقایسه با وینکریستین؛ روش سنجش دیسک سیبزمینی

فاطمه اکبری^{۲،۱}سمیه اسکندری^۳محترم نصراللهی^۴محمد رضانی^۵علیرضا خلیلیان^۶محمد آزادبخت^۷

چکیده

سابقه و هدف: آزمون دیسک سیبزمینی یکی از روش‌های معتبر برای غربالگری اولیه ترکیبات دارای پتانسیل ضد توموری بر اساس مهار تشکیل تومورهای گال تاجی القا شده توسط *Agrobacterium tumefaciens* محسوب می‌شود. مطالعه حاضر با هدف مقایسه اثرات مهار رشد تومور عصاره برگ *Zataria multiflora* و *Taxus baccata* در مقایسه با داروی وینکریستین، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، سیبزمینی‌های سالم پس از ضد عفونی سطحی با محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد و سترومید، تحت شرایط استریل به دیسک‌هایی با ابعاد یکنواخت برش داده شدند و بر روی محیط آگار ۱/۵ درصد قرار گرفتند. سوسپانسیون *A. tumefaciens* با غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهی (۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مخلوط و بر روی دیسک‌ها تلقیح شد. نمونه‌ها به مدت ۱۲ تا ۲۱ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. پس از دوره انکوباسیون، تعداد تومورهای تشکیل شده در هر دیسک شمارش و درصد مهار رشد تومور نسبت به کنترل منفی محاسبه شد. تحلیل آماری داده‌ها برای تعیین تفاوت میان گروه‌ها انجام گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که عصاره برگ *T. baccata* در تمامی غلظت‌های مورد بررسی، مهارکنندگی قابل توجه و معناداری بر تشکیل تومورهای گال تاجی داشت. در مقابل، عصاره *Z. multiflora* تنها در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر مهارکننده معنی‌دار نشان داد و در غلظت‌های پایین‌تر فاقد فعالیت قابل توجه بود.

استنتاج: بر اساس یافته‌ها، *Taxus baccata* می‌تواند رشد تومور مهار کند، در حالی که اثرات *Zataria multiflora* محدود و وابسته به غلظت می‌باشد. این نتایج لزوم بررسی‌های تکمیلی در مدل‌های سلولی و درون‌تنی برای تعیین پتانسیل ضد توموری این ترکیبات را برجسته می‌کند.

واژه‌های کلیدی: مهار تومور، آویشن شیرازی، سرخدار، وینکریستین، دیسک سیبزمینی :

E-mail: azadbakht110@gmail.com

مؤلف مسئول: محمد آزادبخت- ساری، کیلومتر ۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی

۱. استادیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، پژوهشکده علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۲. استادیار، گروه فارماکوتکونوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۳. دکترای داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۵. استاد، گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۶. استاد، گروه آمار، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۷. استاد، گروه فارماکوتکونوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۰/۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۴/۱۰/۶ تاریخ تصویب: ۱۴۰۵/۶/۳۰

مقدمه

سرطان یکی از شایع ترین بیماری های است که جوامع را درگیر می کند. به عنوان مجموعه ای از بیماری ها، با رشد کنترل نشده و بی قاعده سلول های غیرطبیعی شناخته می شود که می توانند به بافت های مجاور تهاجم کرده و عملکرد طبیعی آن ها را مختل کنند (۱). تومور به افزایش موضعی و غیرطبیعی بافت گفته می شود که به صورت توده یا برآمدگی ظاهر شده و از نظر ساختاری با بافت طبیعی تفاوت دارد (۲). با وجود پیشرفت های چشمگیر در روش های تشخیص و درمان سرطان، بروز مقاومت دارویی، سمیت قابل توجه بسیاری از داروهای شیمی درمانی، عوارض جانبی شدید و هزینه بالای درمان، همچنان از مهم ترین چالش های درمان این بیماری به شمار می روند (۳). از این رو، پژوهشگران در سال های اخیر توجه ویژه ای به ترکیبات طبیعی با منشأ گیاهی به عنوان منابع بالقوه داروهای ضد سرطان معطوف کرده اند. تاکنون بیش از ۳۰۰۰ گونه گیاهی با فعالیت ضدسرطانی بالقوه شناسایی شده اند و بخش قابل توجهی از داروهای ضدسرطان رایج نیز منشأ طبیعی یا نیمه طبیعی دارند (۴). گیاهان دارویی به دلیل دارا بودن طیف گسترده ای از متابولیت های ثانویه زیست فعال، از جمله آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی، می توانند از طریق مهار تکثیر سلولی، القای آپوپتوز، مهار رگ زایی، کاهش استرس اکسیداتیو و تنظیم مسیرهای پیام رسانی سلولی، در کنترل رشد تومورها نقش داشته باشند (۵-۷). در گیاهان، بیماری تاج گال نوعی بیماری نئوپلاستیک است که توسط *Agrobacterium tumefaciens*، یک باکتری گرم منفی، ایجاد می شود. این باکتری با انتقال بخشی از DNA اختصاصی خود (T-DNA) به ژنوم گیاه، سبب ایجاد تومور می شود (۸). تومورهای ایجاد شده در این بیماری از نظر ویژگی های بافت شناسی و محتوای اسیدهای نوکلئیک شباهت قابل توجهی با برخی تومورهای انسانی و حیوانی دارند (۸). بر همین

اساس، آزمون مهار تاج گال در دیسک سیب زمینی به عنوان یکی از روش های معتبر غربالگری اولیه فعالیت ضدتوموری گیاهان دارویی شناخته می شود. مطالعات مختلف نشان داده اند که نتایج این آزمون همبستگی مناسبی با فعالیت ضدلوسمی *in vitro* و *in vivo* دارد (۹). علاوه بر این، سادگی، هزینه پایین، سرعت انجام، قابلیت تکرار بالا و امکان استاندارد سازی، این آزمون را به ابزاری مناسب برای ارزیابی اولیه ترکیبات زیست فعال تبدیل کرده است (۱۰). *Zataria multiflora* Boiss از خانواده Lamiaceae و با نام فارسی آویشن شیرازی شناخته می شود (۱۱). این گیاه حاوی طیف وسیعی از ترکیبات زیست فعال از جمله تیمول، کارواکرول، پاراسیمن، ۷-ترپنین، اسید رزمارینیک، اسید اولئانولیک، اسید بتولینیک و فلاونوئیدهایی مانند آپی ژنین و لوتولین است که نقش مهمی در خواص دارویی آن دارند (۱۱، ۱۲). مطالعات مختلف نشان داده اند که این ترکیبات، به ویژه تیمول و کارواکرول، دارای فعالیت های آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، ضد میکروبی، ضد تکثیر سلولی و القا کننده آپوپتوز هستند و می توانند از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و مهار مسیرهای تکثیر سلولی، در پیشگیری یا مهار رشد تومورها نقش داشته باشند (۱۳). علاوه بر این، آویشن شیرازی از دیرباز در طب سنتی ایران به عنوان ضد عفونی کننده، ضد اسپاسم، مسکن و درمان کننده برخی بیماری ها مورد استفاده قرار گرفته است.

گیاه *Taxus baccata* L (سرخدار) درختی همیشه سبز از خانواده Taxaceae است که تنها گونه بومی این جنس در ایران محسوب می شود (۱۴). بخش های مختلف این گیاه، به جز پوشش گوشتی میوه، حاوی ترکیبات ارزشمند گروه تاکسانها هستند که مهم ترین آن ها تاکسول است؛ یکی از موفق ترین داروهای ضدسرطان که امروزه در درمان سرطان های پستان، تخمدان، ریه و برخی بدخیمی های دیگر کاربرد گسترده ای دارد (۱۵، ۱۶). علاوه بر اهمیت دارویی، استفاده

از این گیاه سابقه‌ای طولانی در طب سنتی دارد و ابن سینا نیز از آن با نام «زرنب» به عنوان داروی قلبی یاد کرده است (۱۷، ۱۸). با وجود مطالعات متعدد درباره خواص زیستی *Taxus baccata* و *Zataria multiflora*، اطلاعات محدودی درباره مقایسه مستقیم فعالیت ضد توموری عصاره برگ این دو گیاه در یک مدل استاندارد غربالگری وجود دارد. انتخاب این دو گیاه در پژوهش حاضر به دلیل تفاوت چشمگیر در ماهیت ترکیبات زیست فعال آن‌ها صورت گرفت، به گونه‌ای که *Taxus baccata* به عنوان منبع ترکیبات تاکسان با اثرات ضدسرطانی اثبات شده و *Zataria multiflora* به عنوان گیاهی غنی از ترکیبات فنولی و مونوترپنی با فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدتکثیر سلولی، امکان مقایسه دو گروه متفاوت از متابولیت‌های ثانویه را در یک مدل آزمایشگاهی فراهم می‌کنند. چنین مقایسه‌ای می‌تواند در شناسایی منابع جدید ترکیبات ضد توموری و درک بهتر نقش گروه‌های مختلف متابولیت‌های گیاهی در مهار تومورزایی مؤثر باشد.

بر این اساس، هدف از پژوهش حاضر، ارزیابی و مقایسه فعالیت ضد توموری عصاره‌های هیدروالکلی برگ گیاهان *Taxus baccata* و *Zataria multiflora* در غلظت‌های مختلف با استفاده از آزمون دیسک سیب‌زمینی القا شده توسط *Agrobacterium tumefaciens* و مقایسه نتایج حاصل با داروی وینکریستین به عنوان کنترل مثبت بود. انتظار می‌رود نتایج این مطالعه، علاوه بر ارائه شواهد اولیه درباره ظرفیت ضد توموری این دو گیاه، زمینه را برای انجام مطالعات سلولی، مولکولی و *in vivo* به منظور شناسایی ترکیبات مؤثر و تبیین مکانیسم‌های احتمالی اثر آن‌ها فراهم سازد.

مواد و روش‌ها

مطالعه تجربی حاضر با کد اخلاق IR.MAZUMS.REC.1399.722 مصوب دانشگاه علوم پزشکی مازندران، به بررسی اثر ضد توموری

گیاهان سرخدار اویشن شیرازی در مقایسه با وینکریستین در دیسک سیب‌زمینی می‌پردازد.

مواد گیاهی

در مطالعه تجربی حاضر، برگ‌های *Taxus baccata* از ارتفاعات کوهستانی نکا، در ۴۵ کیلومتری جنوب نکا، استان مازندران، ایران، در ارتفاع ۱۱۰۰ متری جمع‌آوری شدند. همچنین برگ‌های *Zataria multiflora* از فیروزآباد، استان فارس، ایران، در ارتفاع ۱۶۰۰ متری برداشت شدند. تشخیص گیاهان توسط کارشناس سیستماتیک گیاهی انجام شد و نمونه‌های شاهد (*Taxus baccata*: D-51-11 و *Zataria multiflora*: E-36-431) در هرباریوم دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران، نگهداری شدند.

فرآیند استخراج

مواد گیاهی در آون با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد تا کاهش رطوبت خشک شده و سپس با استفاده از مخلوط کن برقی (Tecator، سوئد) خرد شدند. فرآیند استخراج با روش پرکولاسیون و با استفاده از اتانول ۷۰ درصد (نسبت گیاه به حلال ۱ به ۱۰) انجام گرفت. پنجاه گرم از پودر هر گیاه در ۳۰۰ میلی‌لیتر حلال اتانول-آب (نسبت ۳:۷) داخل پرکولاتور قرار داده شد و به مدت دو روز باقی ماند. پس از ۴۸ ساعت، پرکولاسیون با سرعت ۴۰ قطره در دقیقه انجام شد. فیلتراسیون با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صورت گرفت. هر یک از عصاره‌ها با دستگاه تبخیر چرخشی تغلیظ و سپس با دستگاه فریزدرایر خشک شدند تا به صورت پودری جداگانه به دست آیند. هر عصاره در حلال دی‌متیل سولفو کسید (Merck) (DMSO) در غلظت ۹ درصد حل شد و غلظت‌های مورد نیاز برای آزمون ضد تومور (۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ ppm) و مطالعات مربوطه (آزمون آنتی‌باکتریال - ۲۵۰ mg/ml) تهیه شد.

سویه‌های آگروباکتریوم

سویه *Agrobacterium tumefaciens* ATCC 23341 یا B6 از بلژیک تهیه شد و با استفاده از روش استاندارد در آزمایشگاه بیوتکنولوژی، مرکز تحقیقات بوعلی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران، شناسایی گردید (۱۸). سپس با کشت اولیه، کشت ۲۴ ساعته باکتری تهیه شد.

آماده‌سازی کشت باکتریایی

سویه *Agrobacterium* به روش کشت خطی (streaking) روی محیط آگار هضم سویا-کازئین (SCDA) کشت داده شد. محیط SCDA حاوی ۱۵ گرم هیدرولیز آنزیمی کازئین، ۳ گرم هضم پاپائینی سویا، ۵ گرم کلرید سدیم، ۲۰۵ گرم دی‌پتاسیم فسفات و ۲۰۵ گرم دکستروز در یک لیتر آب مقطر بود. پس از رشد، یک کلنی منفرد به محیط کشت منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در دمای 25°C انکوبه شد. سپس، ۶-۷ لوپ از سوسپانسیون باکتریایی با غلظت $(1 \times 10^9 \text{ CFU/mL})$ به بافر فسفات سالین (PBS) استریل منتقل شد و سوسپانسیون حاصل به‌عنوان تلقیح در آزمون ضدتوموری مورد استفاده قرار گرفت.

آزمون ضد باکتریایی

رقیق‌سازی‌های متوالی با غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از هر دو عصاره در محلول ۲ درصد DMSO تهیه شد. عصاره‌های رقیق شده به‌صورت متوالی با ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون *A. tumefaciens* (با غلظت 10^8 CFU/mL) مخلوط شدند. از هر سوسپانسیون، ۱ میلی‌لیتر به یک میکروپلیت ۲۴ خانه استریل افزوده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انکوبه شد. برای تعیین میزان رشد باکتری، ۰/۴ میلی‌لیتر محلول ۲،۳،۵-تری‌فنیل‌تترازولیم کلراید (با غلظت ۵ mg/ml) به هر چاهک اضافه و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس

انکوبه شد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه، چگالی نوری چاهک‌ها با استفاده از دستگاه میکروپلیت‌خوان در طول موج ۵۴۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. حداقل غلظت مهاري (MIC) برای هر رقیق‌سازی محاسبه شد. جنتامایسین ($10 \mu\text{g/mL}$) به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد (۱۹).

آزمون ضدتوموری دیسک سیب‌زمینی

عصاره‌های هیدروالکلی *Zataria multiflora* و *Taxus baccata* با استفاده از آزمون زیستی دیسک سیب‌زمینی از نظر خاصیت ضدتوموری ارزیابی شدند (۲۰، ۲۱). برای تهیه دیسک‌ها، قطعاتی از بخش مرکزی غده‌های سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) با استفاده از یک سوراخ‌گیر استریل جدا شده و به مدت ۳۰ دقیقه در محلول ۱ درصد وزنی/حجمی هیپوکلریت سدیم غوطه‌ور شدند. قطعات ضدعفونی شده با آب استریل شسته شد و به دیسک‌هایی با قطر ۱۵ میلی‌متر و ارتفاع ۵ میلی‌متر برش داده شدند. سپس این دیسک‌ها در پتری‌دیش‌های حاوی ۱/۵ درصد آگار استریل قرار گرفتند. سپس دیسک‌ها با غلظت‌های مختلف هر عصاره (۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در محلول ۲ درصد DMSO با سوسپانسیون (10^8 CFU/mL) *A. tumefaciens* در لوله‌های جداگانه مخلوط شدند. وینکریستین سولفات استریل ($5 \mu\text{g/mL}$) و محلول ۲ درصد DMSO به ترتیب به‌عنوان کنترل مثبت و منفی مورد استفاده قرار گرفتند. سپس ۵۰ میکرولیتر از هر مخلوط روی دیسک‌های سیب‌زمینی اضافه شد. پس از آن، پتری‌دیش‌ها با پارافilm مهر و موم شده و به مدت ۳ هفته در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در زیر هود لامینار انکوبه شدند (تصویر شماره ۱). پس از ۲۱ روز، تومورها با استفاده از استریومیکروسکوپ مشاهده شدند و سپس دیسک‌ها به مدت ۳۰ دقیقه با ید لوگل (۱۰ درصد KI و ۵ درصد I_2) رنگ‌آمیزی شدند؛ سلول‌های توموری فاقد نشاسته هستند. هر آزمایش در سه تکرار انجام شد.

یافته ها

آزمون ضدباکتریایی

در مطالعه حاضر، فعالیت ضد باکتریایی *in vitro* عصاره‌های *Taxus baccata* و *Zataria multiflora* علیه *A. tumefaciens* بررسی شد. عصاره‌ها در دوزهای ۰/۱ تا ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر هیچ گونه اثر مهار بر رشد باکتری نشان ندادند. اثر مهار عصاره‌های *Taxus baccata* و *Zataria multiflora* بر رشد تومور گال تاجی در رقت‌های مختلف با استفاده از زیست آزمون دیسک سیب‌زمینی مقایسه شد. به عنوان کنترل مثبت، تشکیل تومور بر روی دیسک سیب‌زمینی توسط وینکریستین سولفات با غلظت ۰/۵ $\mu\text{g/ml}$ به طور کامل مهار شد (۱۰۰ درصد مهار).

ضد توموری دیسک سیب‌زمینی

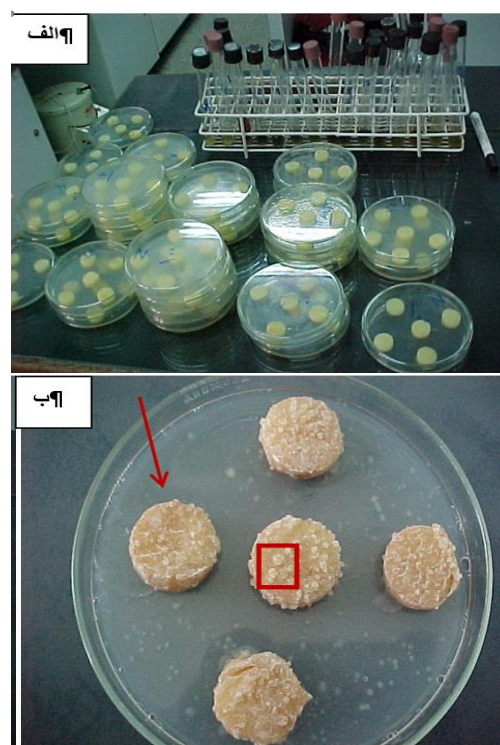
در جداول شماره ۱ و ۲، درصد مهار تومور در اثر غلظت‌های مختلف عصاره *Taxus baccata* و *Zataria multiflora* تحلیل آماری نتایج حاصل از آزمایش‌ها بر روی سرخدار (*Taxus baccata*) و آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) نشان داد که گیاه سرخدار در تمامی غلظت‌های مورد بررسی (۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر) اثر مهار قابل توجهی بر رشد تومور گال تاجی دارد، در حالی که آویشن شیرازی تنها در غلظت ۲ میلی گرم بر میلی لیتر قادر به مهار رشد این تومورها بوده است.

جدول شماره ۱: تعداد تومورهای مشاهده شده روی دیسک‌های سیب‌زمینی و درصد مهار تومور در اثر غلظت‌های مختلف عصاره برگ *Zataria multiflora*

غلظت mg/ml	میانگین تعداد تومور ها (عصاره آویشن)	میانگین تعداد تومور ها (کنترل)	درصد مهار تومور ها
۰/۱	۶۴/۴۵ ± ۱۳۵/۴۸	۶۹/۲۸ ± ۱۲۱/۶۰	+۱۱/۶
۰/۲۵	۶۰/۴۵ ± ۱۳۲/۳۸	۶۹/۸۲ ± ۱۲۱/۶۰	+۹/۱
۰/۵	۵۸/۵۰ ± ۱۲۳/۲۱	۶۹/۸۲ ± ۱۲۱/۶۰	+۱/۶
۱	۴۵/۰۳ ± ۸۱/۸۱	۴۶/۱۸ ± ۹۶/۹۲	+۱۶/۹
۱/۵	۳۴/۰۹ ± ۷۸/۴۱	۴۶/۱۸ ± ۹۶/۹۲	-۱۹/۱
۲	۲۵/۷۲ ± ۷۱/۷۴	۴۶/۱۸ ± ۹۶/۹۲	-۲۷/۸
۲/۵	۴۶/۷۲ ± ۸۶/۶۱	۴۶/۱۸ ± ۹۶/۹۲	-۱۲/۹

وینکریستین (۰/۵ $\mu\text{g/ml}$) موجب ۱۰۰ درصد مهار تشکیل تومور شد.

درصد مهار تومور بر اساس فرمول استاندارد محاسبه شد (۲۱). معمولاً مهار تومور برابر یا بیش از ۲۰ درصد، برای عصاره‌های گیاهی به عنوان مقدار معنی دار در نظر گرفته می‌شود (۱۹).



تصویر شماره ۱: مراحل آماده سازی و انجام آزمون دیسک سیب زمینی جهت ارزیابی فعالیت ضد توموری. الف: دیسک های سیب زمینی با قطر ۵ میلی متر و ضخامت ۵ میلی متر که در پتری دیش های حاوی آگار استریل ۵٪ قرار داده شده اند. نمای دیسک های سیب زمینی ها پس از پایان انکوباسیون، فلش قرمز دیسک های سیب زمینی و مربع قرمز تومور را نشان می دهد

داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ تجزیه و تحلیل شدند. متغیرهای اصلی شامل تعداد تومورهای تشکیل شده و درصد مهار تومور بودند. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار (Mean $\pm$ S) از سه آزمایش مستقل (هر آزمایش با سه تکرار، $n=9$) گزارش شدند. مقایسه گروه‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey-Kramer انجام شد و $P < 0.05$ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

جدول شماره ۲: تعداد تومورهای مشاهده شده روی دیسک‌های سیب‌زمینی و درصد مهار تومور در اثر غلظت‌های مختلف عصاره برگ *Taxus baccata*

درصد مهار تومور ها	میانگین تعداد تومور ها (کنترل)	میانگین تعداد تومور ها (عصاره سرخدار)	غلظت mg/ml
-۱۹/۰۵	۳۴/۱۰ ± ۱۰/۱/۱۹	۵۴/۹۳ ± ۸۲/۷۴	۰/۱
-۱۹/۴	۴۴/۱۰ ± ۱۰/۱/۱۹	۳۱/۸۰ ± ۸۲/۴۲	۰/۲۵
-۲۲/۴	۴۴/۱۰ ± ۱۰/۱/۱۹	۲۵/۹۱ ± ۷۸/۶۰	۰/۵
-۲۰/۹	۶۲/۶۶ ± ۱۳۳/۴۰	۵۳/۴۲ ± ۱۰۱/۸۶	۱
-۲۵/۸	۶۲/۶۶ ± ۱۳۳/۴۰	۴۲/۱۲ ± ۹۹/۷	۱/۵
-۳۱/۲	۶۲/۶۶ ± ۱۳۳/۴۰	۴۸/۰۷ ± ۹۲/۴۵	۲
-۲۱/۴	۶۲/۶۶ ± ۱۳۳/۴۰	۵۳/۴۱ ± ۱۰۵/۶۱	۲/۵

وینکریستین (۰/۵ μg/ml) موجب ۱۰۰ درصد مهار تشکیل تومور شد.

درصد مهار رشد تومور در هر رقت با استفاده از فرمول $n-1$ محاسبه شد، که در آن n نسبت تعداد تومورهای هر رقت به کنترل منفی $\times 100$ است. مقادیر به صورت میانگین ارائه شدند (آزمون Tukey-Kramer $P < 0.001$).

بحث

در مطالعه حاضر، فعالیت ضدتوموری عصاره‌های هیدروالکلی *Taxus baccata* و *Zataria multiflora* با استفاده از آزمون القای تومور تاجی ناشی از *Agrobacterium tumefaciens* مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که هر دو عصاره در غلظت‌های مختلف قادر به مهار تشکیل تومور بودند، اما میزان این اثر به نوع گیاه و غلظت عصاره وابسته بود. عصاره *Taxus baccata* در مقایسه با *Zataria multiflora* فعالیت ضدتوموری قوی‌تری نشان داد و با افزایش غلظت، تعداد تومورهای تشکیل شده به طور محسوسی کاهش یافت. این یافته‌ها بیانگر وجود ترکیبات زیست فعال در این گیاهان است که می‌توانند از طریق مهار تقسیم سلولی، کاهش تکثیر سلول‌های توموری یا مداخله در فرآیندهای مولکولی مرتبط با تومورزایی، از تشکیل تومور جلوگیری کنند.

یافته‌های این پژوهش در مورد فعالیت ضدتوموری *Taxus baccata* با نتایج بسیاری از مطالعات پیشین همخوانی دارد. گونه‌های مختلف جنس *Taxus* از

مهم‌ترین منابع ترکیبات ضدسرطان طبیعی محسوب می‌شوند و وجود دی‌ترپنوئیدهای تاکسان، تاکسول، باکاتین III و مشتقات آن‌ها، نقش مهمی در فعالیت ضدتوموری این گیاهان دارد. در مطالعات مختلف گزارش شده است که عصاره‌ها و ترکیبات استخراج شده از گونه‌های مختلف *Taxus*، از جمله *T. baccata*، *T. T. cuspidata* و *brevifolia*، موجب مهار رشد سلول‌های سرطانی پستان، ریه، کولون و تخمدان شده‌اند (۲۲). اگر چه اغلب این مطالعات بر پایه رده‌های سلولی یا مدل‌های حیوانی انجام شده‌اند، اما مشاهده مهار تشکیل تومور در آزمون تومور تاجی در پژوهش حاضر نیز با این نتایج همسو بوده و نشان می‌دهد که متابولیت‌های موجود در عصاره *Taxus* حتی در یک مدل غربالگری اولیه نیز دارای فعالیت ضدتوموری قابل توجه هستند. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که این ترکیبات با پایداری میکروتوبول‌ها، توقف چرخه سلولی در مرحله G2/M و القای آپوپتوز، از تکثیر سلول‌های سرطانی جلوگیری می‌کنند (۲۳). هر چند در مطالعه حاضر از عصاره کامل گیاه و نه ترکیبات خالص استفاده شد، مشاهده اثر مهارکنندگی قابل توجه بر تشکیل تومور نشان می‌دهد که متابولیت‌های ثانویه موجود در عصاره در ایجاد این فعالیت نقش مؤثری داشته‌اند.

در مقابل، عصاره *Zataria multiflora* نیز فعالیت ضدتوموری قابل توجهی نشان داد، اگر چه شدت این اثر نسبت به *Taxus baccata* کم‌تر بود. این یافته با مطالعاتی که اثرات ضدتکثیری و القاکننده آپوپتوز عصاره‌ها و اسانس *Zataria multiflora* را در رده‌های مختلف سلول‌های سرطانی گزارش کرده‌اند، همخوانی دارد. *Zataria multiflora* سرشار از ترکیبات فنولی و مونوترپن‌های فعال، به‌ویژه تیمول (Thymol) و کارواکرول (Carvacrol)، است که به همراه اسید رزمارینیک، فلاونوئیدها و سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، نقش مهمی در فعالیت‌های ضدسرطان این گیاه ایفا می‌کنند. گزارش شده است که این

ترکیبات از طریق کاهش استرس اکسیداتیو، مهار مسیرهای التهابی، کاهش تکثیر سلولی و القای آپوپتوز، رشد سلول‌های سرطانی را محدود می‌کنند. علاوه بر این، برخی مطالعات نشان داده‌اند که تیمول و کارواکرول قادرند بیان ژن‌های مرتبط با بقا و تکثیر سلول را تعدیل کرده و حساسیت سلول‌های سرطانی را به مرگ برنامه‌ریزی شده افزایش دهند. بنابراین، احتمال می‌رود اثر مهارکنندگی مشاهده شده در این پژوهش نیز حاصل عملکرد هم‌افزای این ترکیبات زیست فعال موجود در عصاره باشد.

مطالعات مختلف اثر سیتوتوکسیک عصاره‌های هیدروالکلی *Taxus baccata* و *Juniperus sabina* را بر رده‌های سلولی سرطانی کبد (HepG2) و تخمدان (SKOV3) همچنین سلول‌های طبیعی بررسی کردند (۲۴، ۲۵). نتایج مطالعه حاضر مبنی بر فعالیت ضد توموری بیش‌تر *Taxus baccata* نسبت به *Zataria multiflora* با نتایج Shokrzadeh و همکاران همخوانی دارد به‌طوری‌که در مطالعه آن‌ها نیز عصاره *Taxus baccata* نسبت به *Zataria multiflora* فعالیت سیتوتوکسیک قوی‌تری بر رده‌های سلولی سرطانی نشان داد (۲۶). با وجود تفاوت در مدل‌های آزمایشی دو مطالعه، به‌طوری‌که در پژوهش حاضر از آزمون القای تومور توسط *Agrobacterium tumefaciens* و در مطالعه Shokrzadeh و همکاران از رده‌های سلولی سرطانی استفاده شد، همسویی نتایج نشان می‌دهد که *Taxus baccata* به دلیل دارا بودن تاکسان‌ها و سایر دی‌ترپنوئیدهای زیست فعال، از پتانسیل ضد توموری بیش‌تری نسبت به *Zataria multiflora* برخوردار است (۲۵، ۲۶). فعالیت زیستی عصاره‌های گیاهی به عوامل متعددی از جمله گونه و ژنوتیپ گیاه، محل و فصل جمع‌آوری، شرایط اقلیمی، بخش مورد استفاده گیاه، روش خشک کردن، نوع حلال استخراج و غلظت ترکیبات مؤثره وابسته است. علاوه بر این، تفاوت در مدل‌های آزمایشگاهی مورد استفاده، از جمله آزمون

تومور تاجی، کشت سلولی یا مدل‌های حیوانی، می‌تواند بر نتایج حاصل تأثیرگذار باشد. از سوی دیگر، عصاره‌های گیاهی مخلوطی پیچیده از متابولیت‌های ثانویه هستند و اثرات بیولوژیک آن‌ها معمولاً حاصل برهم‌کنش و عملکرد هم‌افزای چندین ترکیب، نه یک ماده منفرد، فعال است. بنابراین، اختلاف‌های احتمالی میان نتایج مطالعه حاضر و برخی مطالعات پیشین را می‌توان به تفاوت در ترکیب شیمیایی عصاره‌ها، شرایط استخراج، نوع مدل آزمایشگاهی و طراحی مطالعه نسبت داد (۲۷). اگر چه مکانیسم دقیق اثر ضد توموری عصاره‌های مورد بررسی در این پژوهش نیازمند مطالعات تکمیلی است، شواهد موجود نشان می‌دهد که ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها و ترپنوئیدهای موجود در این عصاره‌ها احتمالاً از طریق کاهش استرس اکسیداتیو، تنظیم مسیرهای پیام‌رسانی سلولی و تعدیل چرخه سلولی در ایجاد اثرات ضد توموری نقش دارند. با توجه به این که مکانیسم‌های اختصاصی بسیاری از این ترکیبات در بخش‌های قبل مورد بحث قرار گرفت، تعیین سهم دقیق هر یک از آن‌ها مستلزم مطالعات مولکولی بیش‌تر است. از آنجا که آزمون *Agrobacterium tumefaciens* یکی از روش‌های معتبر برای غربالگری اولیه ترکیبات با پتانسیل ضد توموری محسوب می‌شود و ارتباط قابل قبولی با نتایج حاصل از مدل‌های پیشرفته‌تر گزارش شده است، مهار تشکیل تومور در این آزمون می‌تواند نشان‌دهنده وجود ترکیبات زیست فعال ارزشمند در عصاره‌های مورد بررسی باشد و زمینه را برای انجام مطالعات سلولی، مولکولی و حیوانی در آینده فراهم سازد.

با وجود نتایج امیدوارکننده این پژوهش، برخی محدودیت‌ها نیز باید مورد توجه قرار گیرند. فعالیت ضد توموری عصاره‌های گیاهی در این مطالعه تنها با استفاده از آزمون *Agrobacterium tumefaciens* ارزیابی شد که اگر چه روشی ساده، سریع و مناسب برای غربالگری اولیه ترکیبات ضد توموری محسوب می‌شود، اما نمی‌تواند به تنهایی بیانگر اثربخشی این

عصاره‌ها در سیستم‌های پیچیده زیستی باشد. همچنین، در این مطالعه ترکیبات مؤثر موجود در عصاره‌ها به صورت جداگانه شناسایی و مقداردهی نشدند؛ از این رو تعیین دقیق سهم هر یک از متابولیت‌های ثانویه در ایجاد اثر ضدتوموری امکان‌پذیر نبود. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده، ضمن شناسایی و استانداردسازی ترکیبات زیست فعال با استفاده از روش‌های کروماتوگرافی و طیف‌سنجی، اثرات این عصاره‌ها در رده‌های سلولی سرطانی و مدل‌های حیوانی نیز بررسی شود تا بتوان با اطمینان بیش‌تری درباره قابلیت درمانی آن‌ها اظهار نظر کرد.

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره‌های هیدروالکلی *Zataria multiflora* و *Taxus baccata* دارای فعالیت ضدتوموری در آزمون القای تومور تاجی ناشی از *Agrobacterium tumefaciens* هستند و میزان این فعالیت به غلظت عصاره وابسته است. در میان گیاهان مورد بررسی، *Taxus baccata* اثر مهارکنندگی قوی‌تری بر تشکیل تومور نشان داد که احتمالاً به حضور

ترکیبات تاکسان و سایر متابولیت‌های زیست فعال آن مرتبط است، در حالی که فعالیت *Zataria multiflora* را نیز می‌توان به وجود ترکیبات فنولی، تیمول، کارواکرول و سایر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی نسبت داد. با توجه به نتایج به‌دست آمده، هر دو گیاه می‌توانند به عنوان منابع بالقوه ترکیبات طبیعی ضدتومور مورد توجه قرار گیرند، هر چند برای تأیید اثربخشی، تعیین مکانیسم‌های مولکولی و ارزیابی ایمنی آن‌ها، انجام مطالعات تکمیلی در مدل‌های آزمایشگاهی و *in vivo* ضروری است.

سپاسگزاری

این پژوهش بخشی از پایان‌نامه دکترای داروسازی (Pharm.D) سمیه اسکندری، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران بوده است. نویسندگان از تمامی کسانی که در انجام این مطالعه مشارکت داشتند، ابراز قدرانی می‌دارند.

References

- 1- Heckmann N, Plage H, Simon R, Lennartz M, Fraune C, Jacobsen F, et al. High level expression of glucocorticoid receptor (GR) is linked to aggressive tumor features, early biochemical recurrence, and genetic instability in prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2026;29(1):181-188 PMID: 41188544.
- 2- Puiggalí J. From nanoparticle design to clinical translation in cancer therapy. *Int J Mol Sci* 2026;27(5):2253.
- 3- Dimaki A, Lazaridou L, Vakalou K, Zervas V, Bartzi D, Tsagkidou K, et al. Natural Compounds in Gastric Cancer Therapy: Molecular Mechanisms and Potential Treatment Options. *Int J Mol Sci* 2026;27(2):753.
- 4- Altundağ EM, Jannuzzi AT, Sakallı HE. Synthetic Drugs and Natural Product Combinations. *Mini Rev Med Chem* 2026 doi: 10.2174/0113895575461002260508073036 . PMID: 42260768.
- 5- Simancas-Racines D, Cagua-Ordoñez J, Angamarca-Iguago J, Parise-Vasco JM, Reytor-González C. Natural Products Targeting Key Molecular Hallmarks in Gastric Cancer: Focus on Apoptosis, Inflammation, and Chemoresistance. *Int J Mol Sci* 2026;27(3):1347 PMID: 41683770.

- 6- Papadopoulou SK, Poullos E, Pritsa A, Psara E, Migdanis A, Giaginis C. Natural Products as Promising Pharmacological Agents Against Cancer: A Holistic Overview of Their Anti-Cancer Mechanisms of Action of the Last Five Years. *Pharmaceuticals* 2026;19(6):910.
- 7- Nazir S, Kiani BH, Bhatti QA, Ahmad KS, Khan R, Al Otaibi S, et al. Investigating the role of Ziziphus Jujuba in the development of bentonite-AgNPs composites for advanced bioactive applications. *Results in Chemistry* 2026;20:103041.
- 8- Munir N, Khilji SA, Rasool S, Khalil A, Sajid ZA. Phytochemical analysis, antibacterial, and antitumor potential of *Hibiscus rosa-sinensis* Linn. *Scientifica* 2025;2025(1):2722306 PMID: 40330800.
- 9- Taj R, Ali S, Khan S, Taj N. Chemical composition, antioxidant, antifungal, antibacterial and anticancer activities of essential oils of *Berberis balochistanica* Ahrendt. *Pak J Pharm Sci* 2026;39(8):2237-2250 PMID: 42262185.
- 10- Shah AH, Khan A, Khan N, Jannat S, Alarjan KM, Elshikh MS, et al. Synergistic phytochemical and nanotechnological exploration of *Melia Azedarach* with silver nitrate: elucidating multifaceted antimicrobial, antioxidant, antidiabetic, and insecticidal potentials. *Microsc Res Tech* 2025;88(2):542-554 PMID: 39479799.
- 11- Alipour ZM, Mirzaei S, Chaichi M, Sanjarian F. Root plasticity and enhanced secondary metabolites biosynthesis in *Zataria multiflora* Boiss. under controlled drought stress. *Industrial Crops and Products* 2026;239: 122555.
- 12- Valizadeh S, Behniafar H, Katiraei F, Valizadeh L, Hashemi M. Phytochemical analysis and antifungal activity of *Satureja hortensis* and *Zataria multiflora* essential oils. *Journal of Zoonotic Diseases* 2026;10(2):1229-1238.
- 13- Latorre R, Valerii MC, Benati M, Lewis RE, Spigarelli R, Bernacchi A, et al. Lights and Shadows of Essential Oil-Derived Compounds: Antimicrobial and Anti-Inflammatory Properties of Eugenol, Thymol, Cinnamaldehyde, and Carvacrol. *Curr Issues Mol Biol* 2025;47(11): 915.
- 14- Mehdiyeva NP, Alizade VM, Bussmann RW, Paniagua-Zambrana NY, Khutsishvili M, Kikvidze Z, et al. *Taxus baccata* L. Taxaceae. *Ethnobotany of the Caucasus: Springer*; 2025:5471–583.
- 15- Hosseinzadeh M, Allahverdi A. Investigation of the effects of Taxol as an anticancer drug on the biomechanical and metabolic properties at the proliferative zone of the spheroids generated from MCF-7 human breast cancer cells in a microfluidic platform. *Modares Journal of Biotechnology* 2025;14(4):25-39.
- 16- Alla M, Kadda S, Touzani R, Hammouti B, Hadda TB, Almalki F. POM Analysis of Taxol anti-cancer drug: What Derivative is in Perspectives. *Arabian Journal of Chemical and Environmental Research* 2026;13(2):352-366.
- 17- Alizadeh M. Wild edible fruit trees in the Hyrcanian forests of Northern Iran: a study of ethnobotanical insights and genetic diversity. *Nat Prod Res* 2025:1–19 PMID: 40151155.
- 18- Hematzadeh A, Esmailzadeh O, Yousefzadeh H, Mirjalili MH. Gender influences the taxanes content in different organs of European yew tree (*Taxus*

- baccata L.) in the Hyrcanian forests. *Trees, Forests and People* 2025;100999.
- 19- Araste F, Ramezani M, Nasir N, Behravan J. The methanolic and aqueous extracts of *Viburnum lantana* exhibit antitumor activity in vitro. *J Chem Pharm Res* 2015;7(6):946-949.
 - 20- Turker AU, Camper ND. Biological activity of common mullein, a medicinal plant. *J Ethnopharmacol* 2002;82(2-3):117-125.
 - 21- Hussain A, Zia M, Mirza B. Cytotoxic and antitumor potential of *Fagonia cretica* L. *Turkish J Biol* 2007;31(1):19-24.
 - 22- Kolomiets N, Mar'in A. Family Taxaceae SF Gray: Composition of Metabolites, Pharmacological Properties, Drugs (A Review). *Russian Journal of Bioorganic* 2025;51(7):2914–2931.
 - 23- Ajee RS, Kaushik S. *Taxus Baccata*. Potent Anticancer Medicinal Plants. 1st ed: Apple Academic Press; 2023.
 - 24- Hassanpour H, Shokrzadeh Lamuki M, Tabari R, Rezaee F, Rezaee F. The phytochemical study and antiproliferative effect of hydroalcoholic extract of *Adiantum capillus-veneris* L. on MCF-7 and MRC-5 cell lines. *The journal of Nova Biologica Reperta* 2018;5(2):118-127.
 - 25- Shokrzadeh M, Azadbakht M, Ahangar N, Naderi H, Saravi SS. Comparison of the cytotoxic effects of *Juniperus sabina* and *Zataria multiflora* extracts with *Taxus baccata* extract and Cisplatin on normal and cancer cell lines. *Pharmacogn Mag* 2010;6(22):102-105 PMID: 20668574.
 - 26- Rampana D, Makhoahle P. Differential Cytotoxic and Selective Anticancer Profiles of Plant Extracts (Leaf, Bark, and Root): A Time-Dependent Evaluation of Solvent (aqueous, DCM, and Methanol) and Tissue Variability in HeLa Cervical Cells. *Vascular and Endovascular Review* 2025;8(11s):148-157.
 - 27- Shokrzadeh M, Azadbakht M, Ahangar N, Naderi H, Saravi SS. Cytotoxic effects of hydroalcoholic extracts of *Cucurbita pepo* and *Solanum nigrum* compared with hydroalcoholic extract of *Taxus baccata* and cisplatin on normal and cancer cell lines. *Planta Medica*. 2009 Jul;75(09):PJ188