

Evaluation of Antioxidant Properties and Antibacterial Effects of *Rumex tuberosus* Extract and Its Toxicity on Colorectal Cancer Cells

Mohammad Hasan Rosta Falah¹, Simin Arian^{*1}, Mahdieh Houshani²

1. Department of Microbiology, To.C., Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.

Mohammadhassaniphone7plus@gmail.com, S.arian26@iau.ir

2. Department of Plant Physiology, To.C., Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.

mhoshani@yahoo.com

* Corresponding authors: S.arian26@iau.ir,

Orcid: 0000-0002-4691-4380

Received: 13/01/2026 Revised: 08/01/2026 Accepted: 16/03/2026

Abstract

Aim and Background: Given the prevalence of cancer, there is an urgent need to control this malignancy by using methods that have minimal side effects. Thus, the purpose of this study is to determine the antioxidant and antibacterial activity of the *Rumex tuberosus* extracts and their inhibitory effect on the growth of colorectal cancer cells.

Materials and Methods: Samples were collected Tonekabon, and extracted by maceration. To determine the cytotoxicity of the extracts, the MTT method was used and the antimicrobial activity was determined by disk diffusion, MIC, and MBC methods. Also, total phenol, flavonoid, and anthocyanin contents were measured.

Results: The results showed that the *R. tuberosus* extracts were rich in phenolic compounds. Also, the extracts showed that significant inhibitory activity against Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*, such that the highest zone of bacterial inhibition at a concentration of 1000 mg⁻¹ml was 20 ± 1.981 and 23 ± 1.013 mm, respectively. the results of the MTT showed that the decrease in the viability of cancer cells depending on the concentration and time, so that the maximum decrease in viability and the increase in the inhibition of cancer cells was obtained in the concentration of 2000 µg⁻¹ml of leaf and seed extract in a period of 72 hours 87.86 and 85.71 %.

Conclusion: It seems that *Rumex tuberosus* seed extract has significant antibacterial and anticancer effects; therefore, as one of the native plants of our country, it can have the potential to be used in the pharmaceutical industry.

Keywords: Antioxidant compounds, *Rumex tuberosus*, Colorectal cancer, Antibacterial activity, Antibiotic resistance

ارزیابی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و اثرات آنتی‌باکتریال عصاره ترشک وحشی (*Rumex tuberosus*) و سمیت آن بر سلول‌های سرطانی کولورکتال

محمدحسن روستای فلاح^۱، سیمین آرین^{۲*}، مهدیه هوشنی^۲

۱. گروه میکروبیولوژی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران.

Mohammadhassaniphone7plus@gmail.com, S.arian26@iau.ir

۲. گروه فیزیولوژی گیاهی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران. mhoshani@yahoo.com

* نویسندگان مسئول: S.arian26@iau.ir، Orcid: 0000-0002-4691-4380

تاریخ بارگذاری: ۱۴۰۴/۱۰/۲۴ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۱۰/۲۸ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۲/۲۵

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به شیوع سرطان، نیاز مبرمی به مهار این بدخیمی با به‌کارگیری روش‌هایی که حداقل عوارض جانبی را دارد احساس می‌شود؛ بنابراین هدف از این پژوهش تعیین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های گیاه ترشک و اثر مهاری آن‌ها بر رشد سلول‌های سرطانی کولورکتال است.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های برگ و دانه گیاه ترشک وحشی از تنکابن جمع‌آوری و عصاره‌گیری به روش خیساندن انجام شد. جهت تعیین سمیت سلولی عصاره‌ها بر روی سلول‌های سرطانی کولورکتال از روش MTT و فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌ها از روش‌های انتشار دیسک، MIC و MBC استفاده شد. همچنین میزان فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل عصاره‌ها نیز تعیین شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که عصاره دانه و برگ گیاه ترشک وحشی سرشار از ترکیبات فنلی بودند. علاوه بر این عصاره دانه فعالیت مهاری قابل‌ملاحظه‌ای برعلیه باکتری‌های گرم مثبت /استافیلوکوکوس/ اورئوس و باسیلوس سرئوس از خود نشان دادند، به‌طوری‌که

بیشترین هاله عدم رشد باکتری‌ها در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد. همچنین نتایج تست MTT نشان داد که کاهش زیستایی سلول‌های سرطانی، وابسته به غلظت و زمان بود، به طوری که بیشترین کاهش زیستایی و افزایش مهار سلول‌های سرطانی در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره برگ و دانه در مدت زمان ۷۲ ساعت به ترتیب ۸۷/۸۶ و ۸۵/۷۱ درصد به دست آمد.

نتیجه‌گیری: با توجه به این نتایج به نظر می‌رسد که عصاره دانه گیاه ترشک وحشی دارای اثرات چشمگیر ضدباکتریایی و ضدسرطانی می‌باشد؛ لذا می‌تواند به عنوان یکی از گیاهان بومی کشورمان پتانسیل استفاده در صنایع دارویی را داشته باشد.

کلمات کلیدی: ترکیبات آنتی‌اکسیدان، ترشک وحشی، سرطان کولورکتال، فعالیت ضدباکتریایی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی.

۱. مقدمه

سرطان کولون به عنوان سومین علت مرگ و میر در دنیا مطرح است و پس از سرطان ریه، سرطان کولون به عنوان شایع‌ترین نوع سرطان در مردان می‌باشد [۱]. این سرطان ابتدا به صورت خوش خیم بوده و در صورت تشخیص به موقع با عمل جراحی کاملاً قابل درمان است و در صورت عدم درمان به موقع به صورت آدنومای پیشرفته و سپس به شکل سرطان بدخیم تکامل پیدا می‌کند [۲]. روش‌های درمان سرطان کولون شامل ترکیبی از شیمی‌درمانی، پرتودرمانی و جراحی است که پرهزینه و پیچیده می‌باشد؛ به همین دلیل استفاده از گیاهان دارویی جهت مهار فرایند تومورزایی و القاء آپوپتوز در سلول‌های سرطانی یک روش جدید جهت مبارزه با سرطان کولون است که از مزایای این روش، هزینه کمتر و اثر جانبی کمتر است [۳]. از سوی دیگر بیماری‌های مهم که همواره گریبان‌گیر انسان بوده، بیماری‌های عفونی است. در این زمینه تلاش‌های متعددی جهت تشخیص عوامل ایجادکننده، درمان و کنترل آن‌ها صورت گرفته است. عمده‌ترین مشکل جهت درمان بیماری‌های عفونی، مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها و عوارض جانبی عوامل ضد میکروبی شیمیایی است [۴]. همین امر باعث شده تا گیاهان به عنوان

مواد طبیعی، کم‌خطر، در دسترس و ارزان قیمت بودن نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها جهت درمان عفونت‌های میکروبی رواج یابند[۵]. ترکیبات ضد میکروبی و ترکیبات فنولی مانند اسیدهای فنولیک، فلاونوئید، تانن و دی‌ترپن‌های فنولی موجود در گیاهان دارویی سبب شده استفاده از این گیاهان مورد توجه پژوهشگران قرار گیرد[۶].

ترشک وحشی با نام علمی *Rumex tuberosus* گیاهی علفی متعلق به خانواده علف هفت‌بند یا Polygonaceae است که تاکنون بیش از ۲۵۰ گونه آن گزارش شده و تقریباً ۲۰۰ گونه از جنس ترشک در مناطق معتدله جنوبی و شمالی کره زمین رشد می‌کنند. در ایران جنس ترشک بیش از ۲۳ گونه دارد که در نواحی غربی، ارتفاعات البرز و زاگرس و آذربایجان و جاهای دیگر پراکنش دارد. در نقاط مختلف دنیا گونه‌های مختلف جنس ترشک به علت ارزش غذایی و درمانی بالای خود مورد توجه مردم بوده است. در طب سنتی چینی از برگ‌ها و ریشه‌های این گیاه در درمان یبوست، فشار خون، کچلی، تومور، سرماخوردگی، التهاب، خونریزی و سردرد استفاده می‌شود. در طب سنتی ایرانی از تمام قسمت‌های گیاه (برگ، دانه و ریشه) برای مصارف درمانی مختلفی استفاده می‌شده است. اهمیت اصلی جنس ترشک بر پایه فعالیت‌های بیولوژیکی آن مثل خواص ضد میکروبی، ضد التهاب و ضد تب، ضد اسهال و ضد ویروسی آن است. ریشه‌های آن نیز دارای خاصیت درمانی بوده و برای درمان سرفه، سردرد و تب کاربرد دارند. عصاره آن قابض بوده و در درمان اسهال خونی مورد استفاده قرار می‌گیرد و جویدن غده تازه برای تسکین درد گلو استفاده می‌شود. ریشه ملین، مقوی و نیروبخش، ضد رماتیسم بوده و در درمان بیماری پوستی کاربرد دارد[۷]؛ بنابراین با توجه به ارزش غذایی بالای ترشک وحشی هدف از این پژوهش ارزیابی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و اثرات آنتی‌باکتریال عصاره ترشک وحشی و سمیت آن بر سلول‌های سرطانی کولورکتال است.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. جمع‌آوری گیاه و عصاره‌گیری

برگ و دانه گیاه ترشک وحشی از منطقه‌ای در نزدیکی شهرستان تنکابن در پاییز ۱۴۰۳ از ارتفاع ۵۰ متری جمع‌آوری شد. سپس نمونه‌ها در سایه و در مجاورت هوا خشک و

سپس آسیاب شدند. مقدار ۳۰ گرم از هر نمونه در ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد خیسانده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. پس از طی شدن زمان مورد نظر، عصاره‌ها صاف شدند. سپس حلال در دمای کمتر از 40°C توسط دستگاه روتاری تبخیر گردید. باقیمانده برای انجام آزمایشات در یخچال با درجه حرارت 4°C نگهداری شد [۸].

۲-۲. اندازه‌گیری محتوای فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل عصاره‌ها

برای اندازه‌گیری محتوای فنل کل به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاه، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۰.۲٪، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالچو ۰.۵٪ اضافه شد. بعد از گذشت نیم‌ساعت جذب آن‌ها در طول موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به شاهد ثبت گردید. اسید گالیک به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی استاندارد به کار رفت. محتوای فنل کل عصاره‌ها براساس میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد [۹].

برای سنجش میزان فلاونوئید کل به ۵۰۰ میکرولیتر از هر عصاره ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪، ۱۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلراید ۱۰٪، ۱۰۰ میکرولیتر محلول استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط بعد از گذشت ۴۰ دقیقه در طول موج ۴۱۵ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری گردید. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد. میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها براساس میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد [۱۰].

برای سنجش میزان آنتوسیانین کل مقدار ۰/۰۲ گرم از بافت خشک گیاهی با ۴ میلی‌لیتر محلول اسید کلریدریک ۱٪ متانول در یک هاون چینی ساییده شد. محلول حاصل به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد. سپس محلول به مدت ۱۰ دقیقه و در ۱۳۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید. فاز رویی را برداشته و جذب محلول‌ها در طول موج ۵۳۰ و ۶۵۷ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. از محلول اسید کلریدریک ۱٪ متانول به‌عنوان شاهد استفاده گردید. میزان آنتوسیانین برای هر عصاره با استفاده از رابطه‌ی زیر محاسبه شد [۱۱].

$$A = A_{\Delta 30} - (0.25 \times A_{\Delta 57})$$

A: جذب محلول (اعداد اندیس نشانگر طول موج‌هایی است که جذب در آن‌ها اندازه‌گیری شد).

۲-۳. ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی عصاره

۲-۳-۱. تهیه سویه‌های باکتریایی

میکروارگانیزم‌های مورد بررسی در این مطالعه شامل باکتری‌های گرم مثبت، *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC: ۱۱۱۲)، *باسیلوس سرئوس* (PTCC: ۱۰۱۵) و باکتری‌های گرم منفی *سودوموناس آئروژینوزا* (PTCC: ۱۰۷۴) و *شرشیا کلی* (PTCC: ۱۳۹۹) می‌باشد. سویه‌های خالص این باکتری‌ها از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران خریداری شد.

۲-۳-۲. آزمون ضدباکتریایی به روش انتشار دیسک

به منظور انجام آزمایش ابتدا میکروارگانیزم‌های مورد نظر در محیط کشت نوترینت برات فعال گردید. سپس از میکروارگانیزم‌های فعال شده سوسپانسیونی معادل با نیم مک‌فارلند تهیه شد. پس از تهیه سوسپانسیون ۰/۱ میلی‌لیتر از آن بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار به‌طور یکنواخت پخش شد. سپس ۳۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره‌ها (۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بر روی دیسک‌های کاغذی اضافه شد و در ادامه دیسک‌ها بر روی محیط کشت قرار داده شد. در پایان پلیت‌ها در دمای مناسب برای هر میکروارگانیزم به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور نگهداری و سپس قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد [۱۲].

۲-۳-۳. تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی از روش رقت لوله‌ای استفاده شد. بدین‌منظور سری‌های رقت از عصاره در محیط نوترینت برات تهیه گردید. پس از تهیه سری رقت‌ها ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی معادل نیم مک‌فارلند به تمامی لوله‌ها اضافه شد. در نهایت لوله‌های تلقیح شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد

انکوبه شدند. اولین لوله‌ای که در آن کدورتی مشاهده شد به‌عنوان MIC در نظر گرفته شد [۱۳].

۲-۳-۴. تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)

از لوله‌ای که در آن‌ها کدورتی مشاهده نشد، ۵ میکرولیتر به محیط کشت جامد (مولر هینتون آگار) منتقل و به مدت یک شب در دمای 37°C نگهداری شد. اولین غلظتی که در آن هیچ رشدی دیده نشد به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی می‌باشد [۱۴].

۲-۳-۵. بررسی اثر عصاره گیاه ترشک وحشی بر رشد و زیستایی رده سلولی A549

به منظور بررسی اثر عصاره متانولی برگ و دانه گیاه ترشک وحشی بر رشد و زیستایی سلولی از آزمون رنگ‌سنجی MTT (۵، ۴، ۳ دی‌متیل تیازول ۲-ایل ۵، ۲ دی‌فینیل تترازولیوم) استفاده شد. برای این منظور تعداد 10^4 سلول در هر چاهک در پلیت‌های ۹۶ چاهکی قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت، غلظت‌های ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای از عصاره متانولی به هر چاهک برای زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت اضافه شد. در هر بازه زمانی، جذب نمونه‌ها توسط دستگاه الیزا در طول موج ۵۴۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. درصد زیستایی توسط فرمول زیر محاسبه شد [۱۵].

$$101 \times \text{جذب کنترل} / \text{جذب نمونه} = \text{درصد زیستایی}$$

۴-۲. آنالیز آماری

داده‌ها براساس میانگین سه تکرار $\pm$ خطا استاندارد گزارش شدند. بررسی تمامی نتایج با استفاده از آنالیز واریانس و براساس آزمون دانکن و با استفاده نرم‌افزار SPSS صورت گرفت و تفاوت‌های با سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار شناخته شدند. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2010 انجام گرفت.

۳. نتایج

۳-۱. بررسی میزان فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل عصاره‌ها

براساس نتایج به‌دست آمده مشخص شد که عصاره‌های برگ و دانه گیاه ترشک وحشی غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان به‌ویژه ترکیبات فنلی بود و بیشترین میزان ترکیبات فنلی در عصاره دانه به‌دست آمد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که میزان فنل کل در عصاره‌های برگ و دانه به‌ترتیب $17/19 \pm 1/015$ و $29/87 \pm 0/533$ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم وزن خشک گیاه به‌دست آمد. همچنین میزان فلاونوئید کل در عصاره‌های برگ و دانه گیاه ترشک وحشی مشابه بود؛ همچنین محتوای آنتوسیانین کل در عصاره‌های برگ و دانه گیاه ترشک وحشی در مقایسه با ترکیبات فنلی مقدار بسیار کمی را به‌خود اختصاص داد (جدول ۱).

جدول ۱. محتوای فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل عصاره برگ و دانه گیاه ترشک وحشی.

داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ خطا استاندارد می‌باشد.

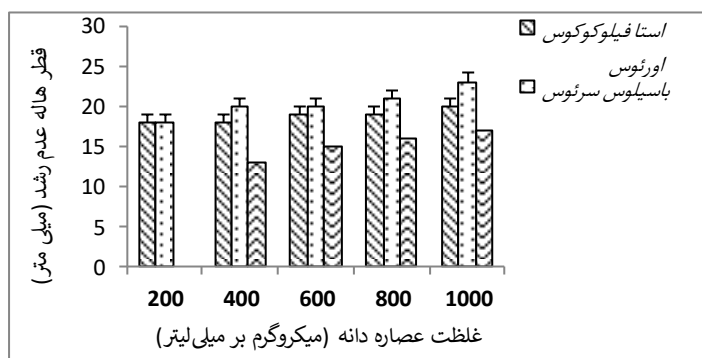
عصاره‌های گیاهی	فنل کل (mgEGA g ⁻¹ DW)	فلاونوئید کل (mgEQ g ⁻¹ DW)	آنتوسیانین کل (mg g ⁻¹ DW)
برگ	$17/19 \pm 1/015$	$0/155 \pm 0/019$	$0/045 \pm 0/001$
دانه	$29/87 \pm 0/533$	$0/150 \pm 0/009$	$0/0385 \pm 0/006$

۳-۲. ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی عصاره برگ و دانه ترشک وحشی به روش

انتشار دیسک

براساس نتایج به‌دست آمده مشخص شد که غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره برگ نتوانست رشد باکتری‌های مورد بررسی را مهار کند؛ حتی غلظت‌های ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره نیز آزمایش شد و مجدداً تأثیر عصاره برگ بر روی باکتری‌های مورد بررسی منفی بود. در خصوص عصاره دانه ترشک وحشی، نتایج نشان داد که حساسیت باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی بیشتر بود. علاوه بر این نتایج نشان داد که در مورد

باکتری‌های گرم مثبت بیشترین هاله عدم رشد در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس/اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* به ترتیب $20 \pm 1/981$ و $23 \pm 1/013$ میلی متر به دست آمد. در خصوص باکتری‌های گرم منفی مورد بررسی، غلظت‌های مختلف عصاره دانه ترشک وحشی بر روی باکتری گرم منفی *اشریشا کلی* مؤثر نبوده، اما غلظت‌های ۶۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره باعث مهار رشد باکتری گرم *سودوموناس آئروژینوزا* گردید، به طوری که بیشترین هاله عدم رشد در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره به $17 \pm 1/121$ میلی متر به دست آمد (شکل ۱).



شکل ۱. بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره دانه گیاه ترشک وحشی به روش انتشار دیسک.

۳-۳. بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره دانه گیاه ترشک وحشی

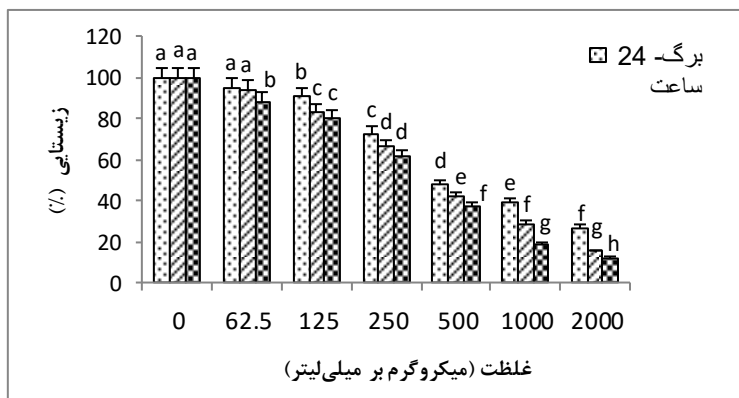
بر اساس نتایج به دست آمده از تست MIC مشخص شد که عصاره دانه ترشک وحشی بر روی رشد باکتری *اشریشیا کلی* تأثیری نداشت. نتایج این تست نشان داد که کمترین MIC توسط عصاره دانه ترشک وحشی برای باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس/اورئوس* به دست آمد (جدول ۲).

جدول ۲. حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی برحسب میلی گرم بر میلی لیتر عصاره دانه ترشک وحشی.

باکتری	شماره باکتری	نوع باکتری	دانه	
			MBC	MIC
<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>	۱۱۱۲	گرم مثبت	۲۰۰	۱۰۰
<i>باسیلوس سرئوس</i>	۱۰۱۵	گرم مثبت	۳۰۰	۱۵۰
<i>سودوموناس آئروژینوزا</i>	۱۰۷۴	گرم منفی	۶۰۰	۳۰۰
<i>اشریشیا کلی</i>	۱۳۹۹	گرم منفی	-	-

۳-۴. مه‌ار رشد سلول‌های سرطانی توسط غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه ترشک وحشی طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت

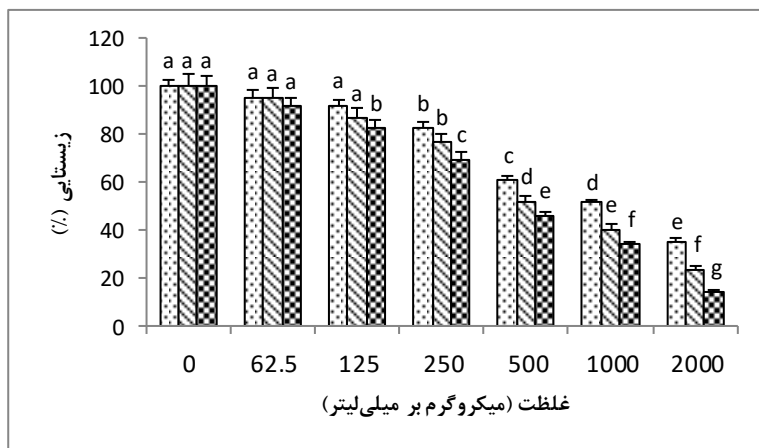
براساس نتایج به‌دست آمده مشخص شد که غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه ترشک وحشی در طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بر مه‌ار رشد سلول‌های سرطانی کولورکتال تأثیر معنی‌داری داشت، به‌طوری‌که با افزایش غلظت عصاره میزان زیستایی سلول‌های سرطانی کاهش یافت. طبق نتایج به‌دست آمده مشخص شد که کمترین درصد زیستایی سلول‌های سرطانی در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره برگ در طی این زمان‌ها به ترتیب $1/411 \pm 26/98$ ، $0/981 \pm 15/34$ و $0/751 \pm 12/14$ درصد مشاهده شد که بیانگر مه‌ار $73/2$ ، $84/66$ و $87/86$ درصد در غلظت مورد نظر است (شکل ۲).



شکل ۲. نمودار مقایسه تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره برگ گیاه ترشک وحشی بر رشد سلول‌های سرطانی کولورکتال طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت. هر ستون نشان‌دهنده میانگین داده‌ها $\pm$ انحراف استاندارد. ستون‌های دارای حداقل یک حروف مشترک با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارد.

۳-۵. مهار رشد سلول‌های سرطانی توسط غلظت‌های مختلف عصاره دانه گیاه ترشک وحشی طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت

نتایج این پژوهش نشان داد که غلظت‌های مختلف عصاره دانه گیاه ترشک وحشی بر مهار رشد سلول‌های سرطانی تأثیر معنی‌داری داشت، به‌طوری‌که کمترین درصد زیستایی سلول‌های سرطانی در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره $\pm 2/40$ ۳۵/۴۶ مشاهده شد که بیانگر مهار ۶۴/۵۴ درصد در غلظت مورد نظر است. همچنین نتایج نشان داد که غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره نیز باعث کاهش $\pm 2/47$ ۵۱/۴۲ درصدی رشد سلول‌های سرطانی نسبت به کنترل شده است و درصد مهار رشد در این غلظت ۴۸/۵۸ درصد به‌دست آمد. در مدت زمان ۴۸ و ۷۲ ساعت نیز کمترین درصد زیستایی سلول‌های سرطانی در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره به ترتیب $\pm 2/07$ ۲۳/۶۵ و $\pm 0/731$ ۱۴/۲۹ درصد به‌دست آمد که بیانگر مهار رشد ۷۱/۳۵ و ۸۵/۷۱ درصدی در غلظت مورد نظر است. همچنین این نتایج بیان کرد که کاهش زیستایی سلول‌ها در مدت زمان ۷۲ ساعت نسبت به زمان ۲۴ ساعت قابل توجه بود (شکل ۳).



شکل ۳. نمودار مقایسه تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره دانه گیاه ترشک وحشی بر رشد سلول‌های سرطانی کولورکتال طی زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت. هر ستون نشان‌دهنده میانگین داده‌ها $\pm$ انحراف استاندارد. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارد.

۳-۶. بررسی همبستگی بین فعالیت ضدباکتریایی و ضدسرطانی عصاره برگ

گیاه ترشک وحشی با ترکیبات آنتی‌اکسیدان اندازه‌گیری شده

جدول همبستگی نشان داد که فعالیت ضدباکتریایی و مهار سلول‌های سرطانی عصاره‌های برگ و دانه ترشک وحشی با محتوای فنل کل در سطح ۱ درصد همبستگی مثبت معنی‌دار دارد. همچنین فعالیت ضدباکتریایی و مهار سلول‌های سرطانی عصاره‌های برگ و دانه با ترکیبات فلاونوئیدی و آنتوسیانینی نیز همبستگی مثبت دارد، اما این همبستگی معنی‌دار نبود (جدول ۳ الف و ب).

جدول ۳ الف. همبستگی بین فعالیت ضدسرطانی عصاره برگ گیاه ترشک وحشی با برخی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی.

آنتوسیانین کل	فلاونوئید کل	فنل کل	مهار سلول‌های سرطانی
۰/۱۷۰ ^{ns}	۰/۴۷۶ ^{ns}	۰/۸۱۵ ^{**}	۱
۰/۵۳۹ [*]	۰/۷۸۰ ^{**}	۱	فنل کل
۰/۴۱۰ ^{ns}	۱		فلاونوئید کل
۱			آنتوسیانین کل

* و ** به ترتیب نشان‌دهنده همبستگی در سطح ۱ و ۵ درصد معنی‌دار است.
^{ns} همبستگی بین صفات معنی‌دار نیست.

جدول ۳ ب. همبستگی بین فعالیت ضدباکتریایی و ضدسرطانی عصاره دانه گیاه ترشک وحشی با برخی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی.

آنتوسیانین کل	فلاونوئید کل	فنل کل	مهار سلول‌های سرطانی	فعالیت ضدباکتریایی
۰/۱۳۵ ^{ns}	۰/۲۱۹ ^{ns}	۰/۷۹۰ ^{**}	۰/۱۸۵ ^{ns}	۱
۰/۲۲۵ ^{ns}	۰/۲۸۰ ^{ns}	۰/۸۱۰ ^{**}	۱	مهار سلول‌های سرطانی
۰/۶۸۰ [*]	۰/۸۱۵ ^{**}	۱		فنل کل
۰/۴۴۵ ^{ns}	۱			فلاونوئید کل
۱				آنتوسیانین کل

* و ** به ترتیب نشان‌دهنده همبستگی در سطح ۱ و ۵ درصد معنی‌دار است.
^{ns} همبستگی بین صفات معنی‌دار نیست.

۴. بحث

در تمام مراحل رشد گیاهان، یک سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی فعال می‌باشد که شامل ترکیبات آنزیمی و غیر آنزیمی است. عمل این آنتی‌اکسیدان‌ها متفاوت است و به‌طور گسترده با عواملی مثل مراحل بلوغ، شرایط آب‌وهوایی، بخش‌های مورد استفاده از گیاه، شرایط برداشت و ذخیره‌سازی تغییر می‌کند [۱۶ و ۱۷]. همچنین تحت تأثیر عواملی دیگر مانند این که عصاره از چه بخشی از گیاه استخراج شده است، روش استخراج و همچنین حلال مورد استفاده برای استخراج نیز قرار دارد. در راستای این مطالعات، برگ و دانه گیاه ترشک وحشی از طبیعت جمع‌آوری و مطالعه شد. نتایج نشان داد برگ و دانه این گیاه سرشار از ترکیبات آنتی‌اکسیدان خصوصاً ترکیبات فنلی می‌باشد (جدول ۱). در تأیید پژوهش حاضر، مطالعه‌ای در جهت بررسی تغییرات برخی ترکیبات فیتوشیمیایی اندام هوایی و ریشه گیاه ترشک وحشی طی مراحل مختلف نمو گیاه انجام شد. نتایج نشان داد که مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنلی و فلاونوئید و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا در هر دو اندام هوایی و ریشه وجود دارد. بیشترین مقادیر فنل، فلاونوئید، اگزالیک اسید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام هوایی در مرحله رسیدن بذر و حداکثر میزان آسکوربیک اسید در مرحله تورم جوانه انتهایی ساقه گل‌دهنده مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان فنل و فلاونوئید کل ریشه در مرحله تورم جوانه انتهایی ساقه گل‌دهنده و بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مرحله رسیدن بذر حاصل شد [۷]؛ بنابراین وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدان در قسمت‌های مختلف گیاه نشان می‌دهد که توانایی آنتی‌اکسیدانی به‌طور قابل ملاحظه‌ای در طی مراحل رشد متفاوت است؛ بنابراین با توجه به درصد ترکیبات آنتی‌اکسیدان گوناگون و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در قسمت‌های مختلف گیاه، می‌توان هر بخش را برای هدف خاصی انتخاب و برداشت کرد.

مطابق نتایج به‌دست آمده خاصیت ضدباکتریایی عصاره دانه گیاه ترشک وحشی را می‌توان به مقادیر بالای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی خصوصاً ترکیبات فنلی موجود در عصاره دانه نسبت داد که نتایج جدول همبستگی نیز نشان داد که خاصیت ضدباکتریایی عصاره دانه گیاه ترشک وحشی با محتوای فنل کل همبستگی مثبت معنی‌دار را نشان داده است (جدول ۳ب). نتایج نشان داد که غلظت‌های ۲۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر

عصاره دانه گیاه ترشک وحشی تأثیر خوبی بر مهار رشد باکتری‌های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* داشت، اما در مورد باکتری‌های گرم منفی تنها بر روی باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* اثرگذار بود. در راستای پژوهش حاضر مطالعه‌ای قبلاً در مورد خواص ضدباکتریایی عصاره گیاه ترشک وحشی انجام شد که با نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر مطابقت دارد. در مطالعه‌ای حسینی و همکاران (۱۳۸۸) به بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره آبی ترشک بر روی سویه‌های *استافیلوکوک اورئوس* و *اشریشاکلی* به روش انتشار دیسک پرداختند. نتایج نشان داد که میانگین قطر هاله‌های ایجاد شده توسط گیاه ترشک بیشتر از آنتی‌بیوتیک‌های داروهای شیمیایی بود. نتیجه نهایی این تحقیق نشان می‌دهد که در تمامی بین قطر هاله عدم رشد و غلظت عصاره رابطه مستقیمی وجود داشته است. بدین معنی که با افزایش غلظت یا به عبارت دیگر با افزایش ماده مؤثره اثر ضدباکتری بیشتر می‌شود [۱۸]. علاوه بر این، تحقیقات متعددی روی فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌ها انجام شد و نتایج این پژوهش‌ها بیانگر این بود که ترکیبات فنلی اثر ضدباکتریایی خوبی روی باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی دارند. به‌طور کلی باکتری‌های گرم منفی در مقایسه به گرم مثبت نسبت به ترکیبات فنلی مقاوم‌تر هستند، که این تفاوت شاید به دلیل تفاوت در ساختمان دیواره سلولی آن‌ها است [۱۹]. باکتری‌های گرم منفی علاوه بر لایه پپتیدوگلیکان، دارای یک غشای خارجی در دیواره سلولی خود است. سطح هیدروفیلی این غشا که غنی از مولکول‌های لیپو پلی ساکاریدی می‌باشد به عنوان مانع در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها عمل می‌کند. همچنین آنزیم‌های موجود در فضای پری پلاسمایی می‌توانند مولکول‌های ورودی از بیرون را بشکنند، اما در مورد باکتری‌های گرم مثبت، مواد ضد میکروبی به راحتی دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی را تخریب کرده که منجر به نشت سیتوپلاسم و انعقاد آن می‌شوند [۲۰]. علاوه بر این، خاصیت مهارکنندگی بیشتر عصاره‌های مورد مطالعه بر روی باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی می‌تواند به علت اتصال گروه‌های هیدروکسیل ترکیبات فنلی موجود در عصاره به گروه N- استیل گلوکز آمین موجود در دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت باشد و مقاومت بیشتر باکتری‌های گرم منفی به عصاره ممکن است به علت وجود لیپو پلی ساکاریدهای غشاء

بیرونی باکتری‌های گرم منفی نسبت داده شود که ذاتاً به عوامل خارجی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها و شوینده‌ها مقاوم هستند [۲۱]. به‌طور کلی مکانیسم‌های احتمالی فعالیت ضد میکروبی عصاره را می‌توان به از بین رفتن یکپارچی غشای سلولی ناشی از اختلال در لایه فسفولیپیدها به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های مهاری اشاره کرد. همچنین استرس اکسیداتیو ناشی از تولید انواع اکسیژن فعال یکی دیگر از سازوکارهای مهم بوده و این مولکول‌ها بیشتر با مهار یا تغییر در همانندسازی DNA، چرخه سنتز پروتئین، چرخه متابولیسم غذایی یا چرخه تنفسی باعث مرگ میکروب می‌شوند [۲۲].

از آنجا که ناتوانی داروهای شیمیایی در درمان کامل بیماری سبب مرگ و میر بیشماری در افراد شده است؛ لذا نیاز به مهار بدخیمی ناشی از این بیماری فکر محققان را به مطالعه گیاهان دارویی با هدف کاهش یا مهار سلول‌های سرطانی سوق داد. به همین منظور تحقیقات گسترده‌ای به منظور شناسایی ترکیبات مؤثر گیاهان دارویی در درمان سرطان کولون و اثربخشی آن نشان داد که سرطان‌زایی و ایجاد تومور ناشی از سرطان کولون با مصرف گیاهان دارویی سبب کاهش ضایعات توموری در بافت کولون شد [۲۳، ۲۴ و ۲۵]. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اثر عصاره‌های برگ و دانه گیاه ترشک وحشی بر روی زیستایی سلول‌های سرطان کولورکتال وابسته به غلظت و زمان بود (شکل‌های ۱ و ۲). طبق نتایج به‌دست آمده مشخص شد که غلظت‌های مختلف عصاره‌های برگ و دانه گیاه ترشک وحشی باعث کاهش زیستایی سلول‌های سرطانی شدند، به‌طوری‌که بیشترین کاهش زیستایی سلول‌های سرطانی در مدت زمان ۷۲ ساعت و در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ها مشاهده شد. همچنین نتایج جدول همبستگی نشان داد که بین مهار رشد سلول‌های سرطانی و محتوای فنل برگ و دانه گیاه ترشک وحشی همبستگی مثبت معنی‌داری وجود دارد (جدول ۳ الف و ب). براساس نتایج به‌دست آمده مشخص شد که عصاره برگ و دانه گیاه ترشک وحشی غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان به‌ویژه ترکیبات فنلی است. این ترکیبات ممکن است چرخه سلولی را مهار کرده و یا چک‌پوینت‌های آن را فعال کنند، مانع همانندسازی DNA شوند و یا مسیر داخلی و یا خارجی آپوپتوز را فعال کنند. همچنین قادر به ایجاد تمایز و مرگ سلولی در سرطان خون، سرطان ریه، سرکوب رگ‌زایی تومور و متاستاز یا

فراگستری سلولی می‌باشند [۲۶]. مطالعات قبلی نشان داده است که ترکیبات آنتی‌اکسیدان مثل فنولیک اسیدها، پلی‌فنل‌ها و فلاونوئیدها رادیکال‌های آزادی نظیر هیدروپراکسید، سوپراکسید و پراکسید هیدروژن را پالایش می‌کنند و مانع از بروز فرایندهای اکسیداتیو که منجر به آسیب به ژنومی و بروز جهش می‌شوند، می‌گردند. فلاونوئیدها به‌طور عمده فرایندهای ایمنی و سلولی مرتبط با گسترش و پیشرفت سرطان مثل تکثیر سلولی، تمایز سلولی و ایجاد رگ‌های جدید را مانع می‌شوند [۱۷ و ۲۷]. گزارشات دیگری نشان دادند که فلاونوئیدهای پلی‌هیدروکسیله و کوئرستین، رشد سلول‌های سرطانی را در شرایط آزمایشگاهی مهار کرده و ساخت DNA را به میزان ۱۴ درصد نسبت به گروه کنترل کاهش می‌دهند و مانع عبور سلول از مرحله G₁ چرخه سلولی به مرحله S می‌گردند [۲۸]. در راستای این اثرات عصاره ضدسرطانی گیاه ترشک (*Rumex confertus*) بر زیستایی سلولی و مسیره‌های مولکولی در سلول‌های سرطان سینه MCF-7 در پژوهش مشابه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. این مطالعه نشان داد که عصاره هگزانی به‌طور قابل‌توجهی زیستایی سلول‌ها را کاهش داد و IC₅₀ آن برابر با ۹/۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر پس از ۹۶ ساعت به‌دست آمد [۲۹]. علاوه بر این مطالعه‌ای نیز بر روی سرطان کولورکتال رده‌های سلولی HT-29، CT-26 و HEK-293 انجام شد. نتایج نشان داد که غلظت‌هایی تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره پروتئینی برای تکثیر سلول‌های طبیعی سمی نیستند؛ درحالی‌که توان زیستی رده‌های سلولی رده سلولی HT-29، CT-26 و HEK-293 به ترتیب ۲۹/۴، ۴۲/۵ و ۷۰ درصد به روش MTT اندازه‌گیری شدند. با توجه به نتایج به‌دست آمده به‌نظر می‌رسد که عصاره پروتئینی ریشه شیرین‌بیان به‌عنوان یک داروی مکمل برای مهار رشد سلول‌های سرطانی روده بزرگ مناسب است [۲۳].

با بررسی تمام این پژوهش‌های ذکر شده در مورد خاصیت ضدسرطانی عصاره‌ها براساس یافته‌های حاصل می‌توان نتیجه گرفت که ترکیبات آنتی‌اکسیدان می‌تواند سبب کاهش تکثیر و افزایش آپوپتوز سلول‌های سرطانی شوند هرچند که در پژوهش حاضر مکانیسم عمل عصاره برگ و دانه گیاه ترشک وحشی در مهار سلول‌های سرطانی کولورکتال مورد بررسی قرار نگرفته است؛ بنابراین در این مورد نمی‌توان اظهارنظر کرد،

اما چیزی که در این پژوهش به اثبات رسید این است که عصاره برگ و دانه گیاه ترشک وحشی حاوی مقدار زیادی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان به‌ویژه ترکیبات فنلی است که به‌دلیل وجود همبستگی مثبت معنی‌دار بین ترکیبات فنلی و مهار رشد سلول‌های سرطانی، احتمالاً وجود فنل‌ها به‌عنوان یک نوع از ترکیبات آنتی‌اکسیدان می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که این ترکیبات احتمالاً از طریق مسیر مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی شوند.

۵. نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان داد که برگ و دانه گیاه ترشک وحشی سرشار از ترکیبات فنلی است. همچنین نتایج فعالیت ضدباکتریایی به روش انتشار دیسک نشان داد که عصاره برگ گیاه ترشک تأثیری بر مهار رشد باکتری‌های مورد بررسی نداشت، اما عصاره دانه در غلظت‌های ۲۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باعث مهار باکتری‌های مورد بررسی شد و بیشترین هاله عدم رشد برای باکتری‌های گرم مثبت /*استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* داشت و حساسیت این باکتری‌ها نسبت به باکتری‌های گرم منفی *سودوموناس آئروزیנוزا* و *شریشیا کلی* بیشتر بود. از سوی دیگر طبق نتایج به‌دست آمده عصاره‌های برگ و دانه گیاه ترشک وحشی اثر مهارری وابسته به غلظت و زمان در مهار رشد سلول‌های سرطانی کولورکتال از خود نشان دادند و بیشترین اثر مهارری برای آن‌ها در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در مدت زمان ۷۲ ساعت به‌دست آمد؛ لذا با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان گفت که عصاره‌های برگ و دانه گیاه ترشک وحشی سرشار از ترکیبات آنتی‌اکسیدان است که با توجه به مقاومت سویه‌های باکتریایی به آنتی‌بیوتیک‌ها و اثرات جانبی داروهای شیمی‌درمانی، عصاره این گیاه خصوصاً عصاره دانه برای بررسی فارماکولوژی بیشتر توصیه می‌شود تا شاید بتوان در آینده از این گیاه در زمینه‌های درمان استفاده کرد.

منابع

1. Mirzaei, R., Mirzaei, H., Alikhani, M.Y., Sholeh, M., Arabestani, M.R., Saidijam, M. (2020). "Bacterial biofilm in colorectal cancer: What is the real mechanism of action?". *Microb Pathogenesis*, 142: 104052.
2. Dalali- Isfahani, L., Monajemi, R., Amjad, L. (2013). "Cytotoxic effects of extract and essential oil leaves of *Achillea wilhelmsii* C. Koch on colon cancers cells". *Exp Anim Biol*, 1(3): 1-6.
3. Abdalan, S., Baghbani-Arani, F., Sadat-Shandiz, S.A. (2018). "Evaluation of anticancer effect of aqueous and hydroalcoholic extracts of *Quercus fectoria* leaf against colon cancer HT29 cell line". *J Arak Univ Med Sci*, 21(4): 48-57. [In Persian]
4. Pedram-Nia, A., Mortazavi, A., Nemat Shahi, M.M. (2018). "Study of chemical compounds and the antimicrobial effects of leaf extract of *Laurus nobilis* L on various microbial strains". *Food Sci Technol*, 15(81): 217-26. [In Persian]
5. Majnoui, M.B., Ebiri, R., Adibi, H. (2009). "Study of antimicrobial effects of *Trigonella Foenum* hydro-alcoholic extract on different bacterial strains". *Med Lab J*, 3(1): 32- 35.[In Persian]
6. Alizadeh- Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Shahidi, F., Mohebbi, M., Vasiee, A. (2014). "Antimicrobial effect aqueous and ethanolic extract of *Avicennia marina* on microorganisms the infection and intoxication in vitro". *J North Khorasan Univ Med Sci*, 6(1): 99-109. [In Persian]
7. Alirezaei-Naghandar, M., Azizi, M., Nemati, H., Rezvani Moghadam, P., Rezazadeh, Sh. (2015). "Investigation of changes in some phytochemical compounds of the aerial parts and roots of *Rumex turcomanicus* Czerep during different stages of plant development". *J Med Plants*, 15 (58): 25-36.
8. Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J., Shahabimajd, N. (2006). "Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants". *Afr. J. Biotechnol*, 5: 1142-1145.
9. Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J., Nacoulma, O.G. (2005). "Determination of the total phenolic, flavonoid and pralin contents in Burkina Fasan honey, as well as their scavenging activity". *Food Chem*, 91: 571-577.
10. Chang, C., Yang, M., Wen, H., Chern, J. (2002). "Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods". *J. Food. Drug. Anal*, 10: 178-182.
11. Mita, S., Murano, N., Akaike, M., Nakamura, K. (1997). "Mutants of *Arabidopsis thaliana* with pleiotropic effects on the expression of the gen for beta-amylase and on the accumulation of anthocyanin that is inducible by sugars". *Plant J*, 11: 841-851.
12. Chakraborty, M., Mitra, A. (2008). "The antioxidant and antimicrobial properties of the methanolic extract from *Cocos nucifera* mesocarp". *Food Chem*, 107: 994-999.

13. Jahantigh, M., Beigomi, M., Mohkami, Z., , Saeidi, S. (2022). "Antimicrobial Activity medical plant extracts, *Prosopis farcta* L. and *Datura stramonium* L., against *Salmonella typhimurium* isolated from poultry in Zabol". 1(3): 36-45. [In Persian]
14. Oroojalian, F., Kasra-Kermanshahi, R., Azizi, M., Bassami, M. R. (2010). "Phytochemical Composition of the Essential Oils from Three Apiaceae Species and Their Antibacterial Effects on Food-borne Pathogens". *Food Chem*, 120: 765-770.
15. Sitiasma, M.J., Al-jamal, H., Yong-Ang, C.H., Matasan, J., Seeni, A., Johan, M.F. (2014). "Apoptosis induction in MV4-11 and K562 human leukemic cells by *Pereskia sacharosa* (Cactaceae) leaf crude extract". *APJCP*, 15 (1) 475-481.
16. Houshani, M., Mianabadi, M., Aghdasi, M., Azim –Mohseni, M. (2012). "An investigation of antioxidant activity of *Physalis alkekengi* methanolic extracts in different phenological stages". *J. Plant Biol*, 4(14): 101-114. [In Persian]
17. Babakhani, B., Houshani, M., Motalebi- Tala Tapeh, S., Hosseini- Boldaji, S.A., Shoja Shafiee, M., Arman, M., Heidari Keshel, S. (2020). "The Evaluation of Antioxidant Activity and Cytotoxicity of Leaf, Orange Fruit, and Calyx Extract of *Physalis alkekengi* on Human Lung Cancer A549 Cell Line". *Triple R*, 5 (1): 11-28.
18. Hosseini, H., Hendali, S., Soor, M., Qezelbash, G., Ameri, A. (2009). "Investigation of the antibacterial effects of the aqueous extract of *Rumex tuberosus* and comparison of its effect with common antibiotics in the treatment of infections caused by *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*". *J. Med. Plants*, 9 (1): 1-8. [In Persian]
19. Mekonnen, A., Desta, W. (2020). "Comparative study of the antioxidant and antibacterial activities of *Rumex abyssinicus* with commercially available *Zingiber officinale* and *Curcuma longa* in Bahir". *Chem. Biol. Technol*, 1: 21-34.
20. Ahmadpour-Torki, M., Ranjbar, M., Govahi, M., Tafrihi, M. (2022). "Effect of Aqueous Extract of Turkey Tail (*Trametes versicolor*) on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Fusarium thapsinum*". *J Gorgan Univ Med Sci*, 2(1):1-14
21. Elansary, H.O., Szopa, A., Klimek-Szczykutowicz, M., Ekiert, H., Barakat, A.A., Al-Mana, F.A. (2020). "Antiproliferative, antimicrobial, and antifungal activities of polyphenol extracts from *Ferocactus* species". *Processes. J. Med. Plants*, 8(2): 138.
22. Roy, A. (2017). "Synthesis, characterization and *antibacterial* properties of a novel silver-exchanged montmorillonite (Ag-Mt) synthesized". *J. Med. Microbiol. Infect. Dis*, 10 (4): 192-198.
23. Khazraei-Moradian, S., Andalib, A., Ganjalikhani-Hakemi, M., Safari, Z., Kardar, G.A. (2015). "The Effect of Protein Extract of Licorice Root in proliferation of HT-29 and CT26 Cancer Cell Lines". *J. Isfahan Med. Sch*, 298

- (32): 1-9. [In Persian]
24. Sefidkon, F., Torabi Sagvand, B., Naderi, M., Ghoshegir, S.A. (2013). "Comparison of anticancer effects of nanocapsules of *Nasturtium officinalis* (L.) R. Br. extract with methanolic extract and its fractions". *IJMAPR*, 29 (1): 35-50. [In Persian]
25. Fayazfar, S., Zamanian-Azodi, M., Heydari Keshel, S., Azizi-Jalilian, F. (2012). "Evaluation of the Cytotoxic Effect of *Cuminum cyminum* essential oils on Human Colon Cancer cell line SW742". *J. Med. Plant*, 20 (4):151-157.
26. Lu, Y., Jiang, F., Jiang, H., Wu, K., Zheng, X., Cai, Y. (2010). "Gallic acid suppresses cell viability, proliferation, invasion and angiogenesis in human glioma cells". *Eur J Pharmacol*, 641(2-3):102-7.
27. Silvestri GA, Alberg AJ, Ravenel J. (2009). "The changing epidemiology of lung cancer with a focus a screening". *Barit. Med*, 399: 451-454.
28. Babakhani B, Houshani M, Motalebi Tala Tapeh S, Shoja Shafiee M, Heidari Keshel S. "The evolution of antioxidant activity and anticancer of Alfalfa extract on MCF7 Cell line". *Triple R*, 2019; 4 (1): 9-14.
29. Gulum, M., Guler, E., Lale Aktaş, F., ÇelikIn, E., et al., 2025. "Vitro Effects of *Rumex confertus* Extracts on Cell Viability and Molecular Pathways in MCF-7 Breast Cancer Cells". *Antioxidants*. 8;14(7):879.