**Iranian Journal of Breast Diseases. 2026; 19(4):4-17**

**Original Article**

# Evaluation of the therapeutic effects of the essence of the leaves and stems of the plant *Echinophora cinerea* on breast cancer: a bronchial and intravenous study in the rat model induced by 7,12-dimethylbenzene anthracene (DMBA)

**Syed Arman Ahmadi[1]✉, Muhammad Hossain pakrooh[1], Shahin Asadpur Sheshbahre[1], Hamidreza Shahidi[1], Somayeh Shahrukh shahraki[2], Rahmatullah fatahyan[3]**

[1] Group of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine of the State University of sharekord, chaharmahal Bakhtiari province, Iran
[2] Group of Pathobiology at the Faculty of Veterinary Medicine of the University of sharekord, chaharmahal Bakhtiari province, Iran
[3] Group of Essential Basic Science of the Faculty of Veterinary Medicine of the University of sharekord, chaharmahal Bakhtiari province, Iran

## Abstract

**Introduction:** Breast cancer is one of the major public health challenges, and the search for natural-origin assistive therapies has become increasingly important. The study aimed to assess the therapeutic effects of the essential oil of Echinophora cinerea (EC-EO) in the treatment of breast cancer using a cell line and a rat model with a 7,12-dimethylbenz [a]anthracene (DMBA)-induced tumor.

**Methods:** A hybrid essential oil (70% leaves and 30% stems) of the collected plant was extracted, and its phytochemical compounds and antioxidant potential were evaluated. Cell toxicity on the MCF-7 hormone-dependent cell line was examined. In the in vivo phase, rats with induced tumors received oral gavage doses of 50 and 100 mg/kg EC-EO for 6 weeks. Tumor parameters, histological changes, and blood indicators were compared with those of the control groups.

**Results:** The essential oil is rich in terpenoids, with predominant Alpha-phellandrene and p-Cymene compounds. The extract exhibited strong antioxidant activity and dose-dependent cell toxicity against MCF-7 cancer cells. In the animal model, the high-dose-treated group showed a significant decrease in tumor weight (55.6% inhibition) and tumor survival rate (50%) compared with the negative control group ($p < 0.001$). Also, significant improvements in hematological parameters and a reduction in tissue lesions (decreased cell density, necrosis, and invasion) were observed.

**Conclusion:** The essential oil of *Echinophora cinerea*, with its rich phytochemical content, exhibits significant anti-tumor and therapeutic effects that depend on the dose. This compound can be considered a natural auxiliary therapeutic agent in the control of breast cancer.

**Keywords:** Breast cancer, Essential oil, Animal model, 7,12-Dimethylbenz[a] anthracene, Antitumor

**Received:** 2025/11/08
**Accepted:** 2026/10/06

***Corresponding Author:**
armenaren186@yahoo.com

**Ethics Approval:**
IR.SKU.REC.1404.020

Copyright © 2026 Ahmadi et al. Published by Breast Cancer Research Center, ACECR
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

[ Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02 ]

## Introduction

Breast cancer remains one of the most common malignancies in the world, and current treatment challenges justify the need for the discovery and development of new drugs [1]. Despite extensive advances in standard treatments such as surgery, chemotherapy, and radiotherapy, these methods always face limitations due to severe side effects and limited efficacy in advanced stages of the disease [2]. Therefore, the use of natural products, especially compounds extracted from medicinal plants as alternative or adjuvant treatments, has attracted researchers' attention [3]. Essential oils, which are volatile and concentrated secondary metabolites from different parts of the plant, are very valuable due to their antioxidant, anti-inflammatory, and anti-cancer properties [4]. Meanwhile, the perennial plant *Echinophora cinerea*, a member of the Apiaceae family native to parts of the Middle East, has high therapeutic potential [5]. Past studies have shown that this plant has antimicrobial and protective effects due to its production of bioactive compounds such as terpenoids [6]. Despite reports of the cytotoxic effects of monoterpenes present in the leaves and stems of this plant against certain cell lines, its therapeutic activity specifically in vivo against breast cancer still requires precise scientific investigation [7,8]. To accurately evaluate these effects, animal models are necessary as a link between in vitro studies and clinical trials [9]. The breast cancer model induced by the substance 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) in rats is one of the most reliable experimental models that properly simulates the process of hormone-dependent tumor formation and progression in humans [10]. Therefore, using this model provides a suitable platform for evaluating therapeutic interventions [11]. This study, by combining phytochemistry, pharmacology, and oncology, investigates the anticancer effects of the essential oils from the leaves and stems of Echinophora cinerea in an induced rat breast cancer model, and will ultimately pave the way for further preclinical and clinical studies.

## Materials and Methods

This experimental study was conducted on female Sprague-Dawley rats. Fifty rats received a single dose of 7,12-Dimethylbenz [a]anthracene (DMBA, 20 mg/kg) via oral gavage, while ten served as a healthy control group (HC). After 10-12 weeks, forty rats developed palpable tumors. They were randomly divided into four groups (n = 10): negative control (NC), low-dose *Echinophora cinerea* essential oil (LDE, 50 mg/kg), high-dose essential oil (HDE, 100 mg/kg), and positive control (Tamoxifen, 5 mg/kg). Plant aerial parts (70% leaves and 30% stems) were collected from the Zagros Mountains, authenticated, and subjected to hydrodistillation using a Clevenger-type apparatus for 4 hours. The essential oil (EC-EO) was analyzed using Shimadzu GC-MS to identify active components. Cell viability was assessed in MCF-7 cell lines using the MTT assay at 24, 48, and 72 hours. Treatments were administered daily via oral gavage for 6 weeks. Body weight and tumor volume were measured weekly. At the end of the period, blood and tissue samples were collected under anesthesia for biochemical, hematological, and histopathological evaluations, with one-way ANOVA and Tukey's test.

## Results

GC-MS analysis of EC-EO revealed major compounds including α-phellandrene (18.50%) and p-cymene (12.99%). The MTT assay showed that EC-EO reduced MCF-7 cell viability in a dose- and time-dependent manner, with an IC50 of 98.45 µg/mL at 48 hours. In the animal model, DMBA induced severe tumor growth (100% incidence in the NC group with a mean tumor weight of 4.82 ± 0.51 g). Treatment with LDE and HDE significantly decreased tumor weight to 2.95 ± 0.38 g (38.8% inhibition) and 2.14 ± 0.29 g (55.6% inhibition), respectively ($p < 0.001$).

Histopathological examination (H&E staining) showed a dose-dependent reduction in cellular density, nuclear pleomorphism, and necrosis in EO-treated groups compared with aggressive tumors in the NC group. Furthermore, HDE completely normalized tumor-induced hematological alterations, including decreased red blood cell (RBC) and hemoglobin (Hb) levels, restoring them to levels comparable to those in the healthy and Tamoxifen groups ($p < 0.05$).

[ Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02 ]

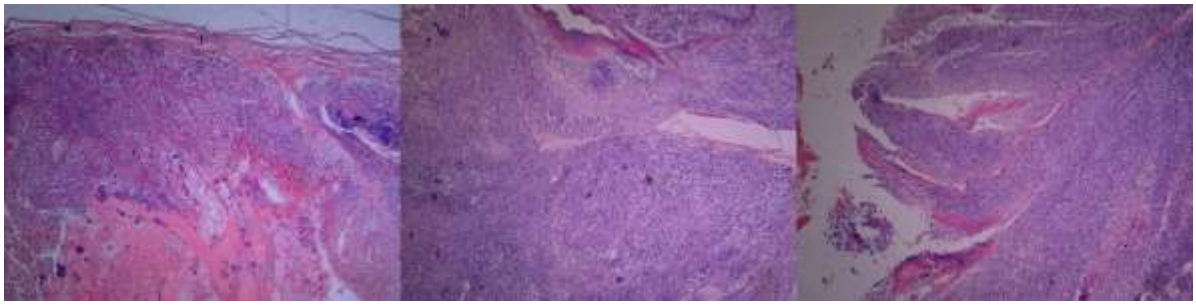


**Figure 1: Histopathological examination of breast tumor tissue (H&E staining, 10x magnification). Image to the right: high-dose treatment group (HDE), indicating reduced cell density and relative preservation of ductal structures. Middle image: low-dose treatment group (LDE), indicating a relative decrease in necrosis. Left image: negative control group (NC), indicating severe hypercellularity and large areas of necrosis (pink tissues).**

**Table 1: Comprehensive Effects of *Echinophora cinerea* Essential Oil (EC-EO) and Treatments**

| Parameter / Metric | Healthy Control (HC) | Negative Control (NC) | LDE (50 mg/kg EC-EO) | HDE (100 mg/kg EC-EO) | Tamoxifen (5 mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|
| **Palpable Tumors (%)** | 0% | 100% | 70% | 50% | 30% |
| **Mean Tumor Weight (g)** | - | 4.82 ± 0.51 | 2.95 ± 0.38 | 2.14 ± 0.29 | 1.24 ± 0.19 |
| **Tumor Inhibition (%)** | - | - | 38.8% | 55.6% | 74.3% |
| **Tumor Volume ($cm^3$)** | - | 3.45 ± 0.32 | 2.12 ± 0.25 | 1.58 ± 0.21 | 0.89 ± 0.15 |
| **WBC (× $10^3$/µL)** | 10.50±0.41 | 2.80 ± 0.87 | 12.80 ± 0.87 | 10.85 ± 0.73 | 10.62±0.49 |
| **RBC (× $10^6$/µL)** | 8.15 ±0.67$^{a}$ | 5.42 ± 0.81$^{b}$ | 7.10 ± 0.54$^{ab}$ | 8.05 ± 0.39$^{a}$ | 7.92 ±0.63$^{a}$ |
| **Hb (g/dL)** | 14.10±1.22$^{a}$ | 9.45 ± 1.33$^{b}$ | 11.20±0.98$^{bc}$ | 13.95± 0.45$^{a}$ | 13.35±0.71$^{ac}$ |
| **Platelets(×$10^3$/µL)** | 410.33±29.54$^{ac}$ | 550.00±41.23$^{b}$ | 475.67±18.92$^{ab}$ | 445.33±22.15$^{c}$ | 460.67±27.84$^{c}$ |
| **Histopathological Findings** | Normal breast tissue | Severe hypercellularity, severe nuclear pleomorphism, wide necrosis | Moderate improvement, smaller necrosis foci | Significant improvement, reduced cell density, ductal structures preserved | Minimal tumor presence, normal architecture, no necrosis |

**Note:** Values are expressed as mean ± SD (n = 10). Different superscript letters within a row indicate significant differences between groups ($p < 0.05$).

## Discussion

In the animal model, the high-dose essential oil (HDE) achieved a 55.6 percent reduction in tumor weight and a 50 percent reduction in tumor incidence, trailing tamoxifen at 74.3 percent [14]. These results match findings by Rojas-Armas et al. (2020) using *Cymbopogon citratus* [14]. Histopathology confirmed dose-dependent drops in hypercellularity, nuclear pleomorphism, necrosis, and tissue invasion. These improvements align with the antiangiogenic and antiproliferative actions of plant terpenoids, including regulation of vascular endothelial growth factor [11, 15]. Blood tests provided clear systemic proof. The DMBA group suffered from severe anemia and thrombocytosis. HDE treatment fully restored red blood cells, hemoglobin, hematocrit, and platelets to healthy baseline levels. This mirrors antioxidant recovery seen with *Annona muricata* essential oil [15].

This work investigated the antitumor activity of Echinophora cinerea extract (EC-EO) against rat breast cancer and MCF-7 cells. Phytochemical screening revealed a dominant profile of terpenoids (85.63 mg/g) and phenolics (45.12 mg/g). Gas chromatography identified alpha-phellandrene (18.50 percent) and p-cymene (12.99 percent) as major constituents, consistent with prior reports [10]. These specific monoterpenes drive strong anti-proliferative and pro-apoptotic effects [12, 11]. The strong antioxidant capacity, as indicated by an ABTS IC50 of 32.15 ug/mL, mitigates oxidative stress that drives carcinogenesis [13].

[ Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02 ]

In vitro tests on MCF-7 cells showed time- and dose-dependent cytotoxicity with an IC50 of 98.45 ug/mL at 48 hours. While weaker than tamoxifen (12.33 ug/mL), natural pleiotropic extracts offer competitive advantages through cell membrane disruption and apoptosis [14, 11]. Excellent animal tolerability and steady weight gain position EC-EO as a strong candidate for complementary therapy. Volatility and poor solubility remain hurdles, though nanotechnology offers clear solutions [16, 17]. Study strengths span a combined phytochemical, in vitro, and in vivo design. Limitations include the absence of deep mechanistic assays for specific apoptotic pathways or long-term toxicity data, meaning that pathways such as VEGF inhibition remain theoretical based on past literature.

## Conclusion

*Echinophora cinerea* essential oil proves effective against breast cancer in both rat models and MCF-7 cells. With solid tolerability, it stands out as a promising natural candidate for future clinical research.

## References


1. World Flora Online. *Echinophora cinerea* (Boiss.) Hedge & Lamond. 2022. Available from: .
2. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Vitic. 1965;16(3):144-58.
3. Aiyegoro OA, Okoh AI. Preliminary phytochemical screening and in vitro antioxidant activities of the aqueous extract of *Helichrysum longifolium* DC. BMC Complement Altern Med. 2010;10:21. DOI: 10.1186/1472-6882-10-21.
4. Shamsa F, Monsef H, Ghamooshi R, Verdian-rizi M. Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants. Thai J Pharm Sci. 2008;32:17-20.
5. Bainbridge Z, Tomlins K, Westby A. Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. Chatham, UK: Natural Resources Institute; 1996.
6. Ghorai N, Chakraborty S, Gucchait S, Saha SK, Biswas S. Estimation of total terpenoid concentration in plant tissues using a monoterpene, linalool, as a standard reagent. Protocol Exchange. 2012. DOI: 10.1038/protex.2012.055.
7. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med. 1999;26(9-10):1231-7. DOI: 10.1016/s0891-5849(98)00315-3.
8. Jayaprakasha GK, Singh RP, Sakariah KK. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models *in vitro*. Food Chem. 2001;73(3):285-90. DOI: 10.1016/S0308-8146(00)00298-3.
9. Faustino-Rocha AI, Oliveira PA, Pinho-Oliveira J, Teixeira-Guedes C, Soares-Maia R, da Costa RG, et al. Estimation of rat mammary tumor volume using caliper and ultrasonography measurements. Lab Anim (NY). 2013;42(6):217-24. DOI: 10.1038/laban.204.
10. Ghasemi Pirbalouti A, Gholipour Z. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oil from *Echinophora cinerea* harvested at two phenological stages. J Essent Oil Res. 2016;28(6):501-11. DOI: 10.1080/10412905.2016.1176822.
11. Gautam N, Mantha AK, Mittal S. Essential oils and their constituents as anticancer agents: a mechanistic overview. Biomed Res Int. 2014;2014:154106. DOI: 10.1155/2014/154106.
12. de Sousa DP, de Almeida RN. $\alpha$-Phellandrene: A review of its pharmacology, toxicity, and metabolism. Rev Bras Farmacogn. 2017;27(1):122-8.
13. Mustapa AN, Martin A, Amat N, Aziz AA. Anti-Breast Cancer Activity of Essential Oil: A Systematic Review. Molecules. 2022;27(24):8749. DOI: 10.3390/molecules27248749.
14. Rojas-Armas JP, Arroyo-Acevedo JL, Palomino-Pacheco M, Yáñez-Cárdenas I, Orizola-Soplin C, Ruiz-Quiroz J, et al. The Essential Oil of *Cymbopogon citratus* Stapt


[ Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02 ]

and Carvacrol: An Approach of the Antitumor Effect on 7,12-Dimethylbenz-[$\alpha$]-anthracene (DMBA)-Induced Breast Cancer in Female Rats. Molecules. 2020;25(14):3299. DOI: 10.3390/molecules25143299.

15. Rojas-Armas JP, Palomino-Pacheco M, Yáñez-Cárdenas I, Orizola-Soplin C, Delgado-Pérez P, Alarcón-Vásquez B, et al. Phytochemical Constituents and Ameliorative Effect of the Essential Oil from *Annona muricata* L. Leaves in a Murine Model of Breast Cancer. Molecules. 2022;27(6):1869. DOI: 10.3390/molecules27061869.
16. Blowman K, Magalhães M, Lemos MFL, Cabral C, Pires IM. Anticancer Properties of Essential Oils and Other Natural Products. Evid Based Complement Altern Med. 2018;2018:3149362. DOI: 10.1155/2018/3149362.
17. Zahra AA, Susanti I. Review Development of Essential Oil Nano Preparation Formulations to Pharmacological Activity. J Pharm Sci. 2023;6(2):381-7. DOI: 10.36490/journal-jps.com.v6i2.95.
18. Russo R, Russo GL. The role of p-cymene in the anticancer activity of essential oils. Cancers (Basel). 2021;13(4):835.

[ Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02 ]

مقاله‌پژوهشی

مجله علمی
بیماری‌های پستان ایران
۱۷-٤:(٤)۱۹؛۱٤۰۵

# ارزیابی اثرات درمانی اسانس برگ و ساقه گیاه *Echinophora cinerea* بر سرطان پستان: یک مطالعه برون‌تنی و درون‌تنی در مدل موش صحرایی (رت) القا شده با ۷،۱۲–دی‌متیل‌بنزن آنتراسن *(DMBA)*

سیدآرمان احمدی[۱]✉، محمد حسین پاکروح[۱]، شاهین اسدپور شش بهره[۱]، حمیدرضا شهیدی[۱]، سمیه شاهرخ شهرکی[۲]، رحمت‌الله فتاحیان[۳]

[۱] گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، چهارمحال بختیاری، ایران
[۲] گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، چهارمحال بختیاری، ایران
[۳] گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، چهارمحال بختیاری، ایران

تاریخ ارسال: ۱۴۰۴/۰۸/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۷/۱۴

* نویسنده مسئول:
armenaren186@yahoo.com

## چکیده

**مقدمه:** سرطان پستان یکی از چالش‌های عمده بهداشت عمومی است و جستجو برای یافتن درمان‌های کمکی با منشاء طبیعی اهمیت فزاینده‌ای یافته است. این مطالعه با هدف ارزیابی اثرات درمانی اسانس گیاه *Echinophora cinerea* (EC-EO) در درمان سرطان پستان با استفاده از رده سلولی و مدل حیوانی موش صحرایی مبتلا به تومور القا شده با ۷،۱۲-دی‌متیل‌بنزن (DMBA) آنتراسن انجام گرفت.

**روش بررسی:** اسانس ترکیبی (٪۷۰ برگ و ٪۳۰ ساقه) از گیاه یادشده جمع‌آوری شده از کوه‌های زاگرس استخراج شد و ترکیبات فیتوشیمیایی و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی آن ارزیابی گردید. سمیت سلولی بر روی رده سلولی وابسته به هورمون MCF-7 با آزمون بررسی شد. در بخش درون‌تنی، موش‌های صحرایی دارای تومور القایی، دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از اسانس را به مدت ۶ هفته از طریق گاواژ خوراکی دریافت کردند. پارامترهای تومور، تغییرات بافت‌شناسی و شاخص‌های خونی با گروه‌های کنترل مقایسه شدند.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که اسانس سرشار از ترپنوئیدها با ترکیبات غالب آلفا-فلاندرن و پی-سایمن است. این عصاره فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی و سمیت سلولی وابسته به دوز از خود نشان داد. در مدل حیوانی، گروه تیمار شده با دوز بالا کاهش معنی‌داری در وزن تومور (مهار ۵۵/۶٪) و نرخ بقای تومور (٪۵۰) نسبت به گروه کنترل منفی نشان داد ($p < 0.001$). همچنین، بهبود قابل‌توجهی در پارامترهای هماتولوژیک و کاهش ضایعات بافتی (کاهش تراکم سلولی، نکروز و تهاجم) مشاهده گردید.

**نتیجه‌گیری:** اسانس *Echinophora cinerea* با دارا بودن ترکیبات فیتوشیمیایی غنی، اثرات ضد توموری و درمانی قابل‌توجهی را به صورت وابسته به دوز نشان می‌دهد. این ترکیب می‌تواند به عنوان یک عامل درمانی طبیعی در کنترل سرطان پستان مورد توجه قرار گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** سرطان پستان، اسانس، مدل حیوانی، ۷،۱۲-دی‌متیل‌بنزن آنتراسن، ضدتومور

[ Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02 ]

## مقدمه

سرطان پستان همچنان یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌ها در جهان است که چالش‌های درمانی موجود، نیاز به کشف و توسعه داروهای جدید را توجیه می‌کند (۱). علی‌رغم پیشرفت‌های گسترده در درمان‌های استاندارد نظیر جراحی، شیمی‌درمانی و پرتودرمانی، این روش‌ها به دلیل عوارض جانبی شدید و اثربخشی محدود در مراحل پیشرفته بیماری، همواره با محدودیت‌هایی مواجه هستند (۲). از این رو، استفاده از محصولات طبیعی به ویژه ترکیبات استخراج شده از گیاهان دارویی به عنوان درمان‌های جایگزین یا کمکی (Adjuvants) توجه پژوهشگران را به خود جلب کرده است (۳).

اسانس‌های روغنی (Essential oils) که در واقع متابولیت‌های ثانویه فرار و تغلیظ شده بخش‌های مختلف گیاه می‌باشند، به‌دلیل برخورداری از خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضد سرطانی بسیار ارزشمند هستند (۴). در این میان، گیاه چندساله *Echinophora cinerea* از خانواده چتریان (Apiaceae) که بومی برخی مناطق خاورمیانه است، پتانسیل درمانی بالایی دارد (۵). مطالعات گذشته نشان داده‌اند که این گیاه به دلیل تولید ترکیبات زیست‌فعال (Bioactive) مانند ترپنوئیدها، دارای اثرات ضد میکروبی و محافظتی است (۶). با وجود گزارش‌هایی مبنی بر اثرات سایتوتوکسیک (Cytotoxic) مونوترپن‌های موجود در برگ و ساقه این گیاه علیه برخی رده‌های سلولی، فعالیت درمانی آن به‌طور اختصاصی بر روی سرطان پستان درون‌تنی همچنان نیازمند بررسی‌های دقیق علمی است (۷، ۸).

برای ارزیابی دقیق این اثرات، استفاده از مدل‌های حیوانی به عنوان حلقه اتصال مطالعات برون‌تنی (In vitro) و کارآزمایی‌های بالینی ضروری است(۹). مدل سرطان پستان القا شده با ماده ۷،۱۲-دی‌متیل‌بنزن آنتراسن (DMBA) در موش صحرایی، یکی از معتبرترین مدل‌های تجربی است که روند تشکیل و پیشرفت تومورهای وابسته به هورمون در انسان را به خوبی شبیه‌سازی می‌کند (۱۰). بنابراین، استفاده از این مدل بستر مناسبی را برای ارزیابی مداخلات درمانی فراهم می‌آورد (۱۱).

این مطالعه با ترکیب فیتوشیمی، فارماکولوژی و انکولوژی، به بررسی اثر ضدسرطانی اسانس برگ و ساقه *Echinophora cinerea* در مدل سرطان پستان رت القایی می‌پردازد و در نهایت این پروژه راه را برای مطالعات پیش‌بالینی و بالینی بیشتر هموار خواهد کرد.

## مواد و روش‌ها

**(نوع مطالعه: این یک مطالعه تجربی (Experimental Study) آزمایشگاهی و حیوانی است.)**

### مواد شیمیایی

سرم‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها از شرکت رویان دارو (ایران) خریداری شدند. دی‌متیل‌بنزن آنتراسن (DMBA) از شرکت مرک آلمان (Merck)، تهیه شد. تاموکسیفن سیترات (Mylan®) توسط شرکت ایرانی داروسازی ابوریحان تولید شده و تمامی داروها از ایران خریداری شدند.

در مجموع ۶۰ سر رت ماده تهیه شد. از این تعداد، ۵۰ رت دوز واحد DMBA را دریافت کردند و ۱۰ رت به عنوان گروه کنترل سالم (HC) جدا شدند. پس از ۱۰ الی ۱۲ هفته، دقیقاً ۴۰ رت از گروه دریافت‌کننده DMBA تومورهای قابل لمس نشان دادند. این ۴۰ حیوان بر اساس حجم اولیه تومور، به صورت تصادفی در ۴ گروه ده‌تایی (n=10) توزیع شدند تا میانگین بار توموری پایه در شروع درمان برای همه گروه‌ها یکسان باشد.

### مواد گیاهی و آماده‌سازی عصاره

نام گیاه Echinophora cinerea با استفاده از وب‌سایت (http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000116223) به عنوان نام پذیرفته شده تأیید شد (۱) گیاه در آگوست ۲۰۲۴ (مرداد/شهریور ۱۴۰۳) از کوه‌های زاگرس در شهرستان کوهرنگ، استان چهارمحال و بختیاری، ایران جمع‌آوری شد. نمونه‌های گیاهی به آزمایشگاه فارماکولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد منتقل شدند. ساقه‌ها و برگ‌های جدید شسته، مرتب و در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) در هوا خشک شدند تا به وزن ثابت برسند، سپس آسیاب شده و در بطری‌های کهربایی نگهداری شدند. صد گرم (۱۰۰ گرم) نمونه پودر شده (۷۰ درصد برگ و ۳۰ درصد ساقه) که هویت گیاه توسط متخصص گیاه‌شناسی تایید و نمونه تأییدشده (Voucher specimen) در هرباریوم دانشگاه

[ Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02 ]

ثبت و نگهداری شد با ۱۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۴ ساعت با استفاده از دستگاه کلونجر (Clevenger-type، ساخت ایران) تحت تقطیر با آب (hydrodistillation) قرار گرفت. (به منظور دستیابی به پروفایل کاملی از متابولیت‌های ثانویه و با توجه به بازده بالای اسانس در برگ و وجود ترکیبات مکمل در ساقه، ترکیب ۷۰ درصد برگ و ۳۰ درصد ساقه برای استخراج انتخاب گردید.) اسانس حاصل جدا شده، با سولفات سدیم بی‌آب خشک و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در ویال‌های کهربایی نگهداری شد.

**شناسایی فیتوشیمیایی و تست زیست‌پذیری سلولی**

ترکیبات زیست‌فعال شامل فنولیک‌ها (۲)، فلاونوئیدها (۳)، آلکالوئیدها (۴)، تانن‌ها (۵) و ترپنوئیدهای کل (۶). با استفاده از روش‌های استاندارد کمی‌سازی شدند. پتانسیل آنتی‌اکسیدانی با استفاده از آزمون‌های مهار رادیکال ABTS و قدرت کاهندگی ارزیابی شد (۷، ۸).

ترکیب شیمیایی اسانس با استفاده از دستگاه (Shimadzu series GC-MS(GC-2030) شرکت سازنده (Shimadzu، ژاپن) مجهز به (Headspace) (HS-20 Mass Spectrometer GCTQ8040NX) و ستون SH-Rxi-5 SILMS(0.25 × 30 × 0.25) شناسایی شدند. ترکیبات فوق با استفاده از کتابخانه NIST شناسایی شدند.

برای سنجش زیست‌پذیری سلولی (Cell Viability) سلول‌ها با تراکم ۱۰ هزار سلول در هر چاهک کشت داده شدند. اسانس در حلال DMSO (با غلظت نهایی کمتر از ۰/۱ درصد) حل شد. پس از انکوباسیون با غلظت‌های مختلف، زیست‌پذیری با آزمون MTT سنجیده و جذب نوری توسط دستگاه الایزا ریدر در طول موج ۵۷۰ نانومتر قرائت شد. این آزمایش در ۳ تکرار مستقل (n=3) انجام گرفت. این روند به این دلیل بود که این سلول‌ها دارای گیرنده‌های هورمونی مثبت هستند و ارتباط بیولوژیکی دقیقی با تومورهای پستانی وابسته به هورمون القا شده توسط DMBA در مدل درون‌تنی مورد پژوهش دارند پس از رده سلولی سرطانی MCF-7 (انستیتوپاستور ایران) استفاده شد. سلول‌ها در معرض غلظت‌های ۵، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰ یا ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اسانس قرار گرفتند و برای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوبه شدند. زیست‌پذیری سلولی با استفاده از روش تیازولیل بلو تترازولیوم بروماید (MTT) (Merck، آلمان) سنجیده شد.

**القا سرطان پستان در رت‌های ماده Sprague-Dawley**

**ملاحظات اخلاقی:** این مطالعه بر روی حیوانات آزمایشگاهی انجام شده است. حیوانات از موسسه تحقیقاتی رویان اصفهان تهیه شدند و در خانه حیوانات دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد تحت شرایط استاندارد (دمای ۲۱±۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۰-۶۰ درصد، چرخه ۱۲ ساعت روشنایی: ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری شدند. این پژوهش با شناسه اخلاق (IR.SKU.REC.1404.020) انجام شده است.

براساس مطالعات سمیت اولیه، دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسانس E. cinerea برای بررسی‌های ضدسرطان پستان انتخاب شدند. پنجاه (۵۰) رت ماده Sprague-Dawley (۴۵ روزه، وزن ۱۶۰-۱۸۰ گرم) پس از یک هفته سازگاری، در سن ۵۰ روزگی یک دوز واحد DMBA (20 mg/kg) حل شده در روغن کنجد را از طریق گاواژ خوراکی دریافت کردند (به جز گروه کنترل سالم).

پس از ۱۲-۱۰ هفته، رت‌های دارای تومورهای قابل لمس به صورت تصادفی به ۵ گروه (n=۱۰) تقسیم شدند:

**کنترل منفی :(NC)** رت‌های دارای تومور دریافت‌کننده حامل (روغن زیتون(حلال)، 1 mL/kg/day)

**عصاره دوز پایین (LDE):** رت‌های دارای تومور دریافت‌کننده اسانس (50 mg/kg/day) در حلال

**عصاره دوز بالا (HDE):** رت‌های دارای تومور دریافت‌کننده اسانس (100 mg/kg/day) در حلال

**کنترل مثبت (Tam):** رت‌های دارای تومور دریافت‌کننده تاموکسیفن (5 mg/kg/day) در حلال

**کنترل سالم (HC):** رت‌های سالم دریافت‌کننده حامل (روغن زیتون).

درمان روزانه به مدت ۶ هفته ادامه یافت. وزن بدن و حجم تومور هفتگی اندازه‌گیری شد. در پایان دوره، حیوانات با تزریق داخل صفاقی (IP) مخلوط کتامین (۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. پس از خون‌گیری قلبی، یوتانازی با روش جابجایی مهره گردن (Cervical dislocation) انجام شد. پارامترهای تومور شامل بروز تومور (٪)، وزن تومور (گرم)، درصد مهار (٪) و حجم تومور (سانتی‌متر مکعب) بر اساس فرمول‌های استاندارد (۹) محاسبه شدند. (یادآور می‌شویم

[ Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02 ]

که در طول ۶ هفته دوره درمان، داروها و اسانس به صورت روزانه از طریق گاواژ خوراکی (Oral gavage) به حیوانات خورانده شد تا استرس ناشی از تزریقات مکرر کاهش یابد. اندازه‌گیری وزن و حجم تومور به صورت هفتگی با کولیس انجام گرفت؛ دلیل انتخاب بازه هفتگی، به حداقل رساندن استرس فیزیکی ناشی از مهار مکرر حیوان بود که می‌تواند بر روند بیماری تأثیر منفی بگذارد).

### تحلیل آماری

برای تحلیل داده‌های تکرارشونده مانند وزن بدن و حجم تومور که به‌صورت هفتگی ثبت می‌شدند، آنالیز واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر (Repeated-Measures ANOVA) به کار رفت. نتایج آزمون MTT با آنالیز واریانس دوطرفه (Two-way ANOVA) ارزیابی شد. برای مقایسه‌های بین‌گروهی پایانی، آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی را اجرا کردیم.

## یافته‌ها

شناسایی فیتوشیمیایی اسانس(EC-EO) به عبارتی ترکیبات زیست‌فعال در EC-EO کمی‌سازی شدند (جدول ۱). نتایج نشان‌دهنده محتوای فیتوشیمیایی غنی بود که در این میان ترپنوئیدها (EO 85.63 ± 6.89 mg/g) به دلیل ماهیت اسانسی عصاره، بیشترین فراوانی را داشتند. پتانسیل آنتی‌اکسیدانی EC-EO از طریق سنجش‌های ABTSو قدرت کاهندگی ارزیابی شد. سنجش ABTS مقدار IC50 برابر با ۳۲/۱۵ µg/mL را نشان داد که حاکی از فعالیت قوی در مهار رادیکال‌ها بود.

مقادیر به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند؛ GAE: معادل گالیک اسید؛QE : معادل کوئرستین؛QiE : معادل کینین؛EO: اسانس آنالیز GC-MS، دوازده ترکیب عمده را در مخلوط EC-EO (۷۰ درصد برگ + ۳۰ درصد ساقه) شناسایی کرد که در این میان آلفا-فلاندرن (α-Phellandrene) (۱۸/۵۰٪)، پی-سایمن (p-Cymene) (۱۲/۹۹٪) و (R)-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-6 (۱۰/۹۰٪) فراوان‌ترین بودند (جدول ۱).

**جدول ۱: اجزای شیمیایی عمده اسانس مخلوط *Echinophora cinerea***

**Table 1: Chemical components to the mixed essence of *Echinophora cinerea***

| Order | Composition | RI | Leaves (%) | Stem (%) | Mix (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | alpha-Pinene | 937 | 1.04 | 10.66 | 3.93 |
| 2 | beta-Myrcene | 991 | 1.47 | 2.60 | 1.81 |
| 3 | alpha-Phellandrene | 1010 | 16.50 | 23.17 | 18.50 |
| 4 | p-Cymene | 1026 | 7.80 | 35.25 | 12.99 |
| 5 | Beta-Phellandrene | 1031 | 5.87 | - | 4.11 |
| 6 | Linalool | 1098 | 11.87 | 4.21 | 9.57 |
| 7 | Verbenol | 1145 | 2.92 | 0.71 | 2.26 |
| 8 | Sabinol | 1179 | 5.77 | 2.74 | 4.86 |
| 9 | "6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, (R)" | 1220 | 14.02 | 3.63 | 10.90 |
| 10 | Thymol | 1287 | 2.67 | 0.92 | 2.14 |
| 11 | Carvacrol | 1299 | 6.48 | 3.03 | 5.44 |
| 12 | "(1S,2S,3R,5S)-(+)-Pinanediol" | 1313 | 2.89 | 0.37 | 2.13 |

### شاخص بازداری بر اثر اسانس بر زیست‌پذیری سلول‌های MCF-7

سنجش MTT نشان داد که EC-EO زیست‌پذیری سلول‌های MCF-7 را به صورت وابسته به دوز و زمان کاهش می‌دهد (جدول ۳). قابل توجه‌ترین سمیت سلولی در ۴۸ ساعت مشاهده شد، با IC50 برابر با ۹۸.۴۵µg/mL، در حالی که تاموکسیفن IC50 برابر با ۱۲/۳۳ µg/mL داشت.

**جدول ۲: زیست‌پذیری سلول‌های MCF-7 (٪) پس از درمان باEC-EO**

**Table 2: Ecology of MCF-7 ( % ) cells after treatment with EC-EO**

| Concentration (µg/mL) | 24 Hours | 48 Hours | 72 Hours |
|---|---|---|---|
| 5 | 95.2 ± 2.1 | 92.1 ± 1.9 | 90.3 ± 2.0 |
| 10 | 90.1 ± 1.8 | 85.4 ± 1.7 | 82.6 ± 1.5 |
| 50 | 78.3 ± 2.5 | 65.7 ± 2.3 | 60.2 ± 2.1 |
| 100 | 62.5 ± 2.0 | 48.9 ± 1.8 | 45.1 ± 1.6 |
| 250 | 45.7 ± 1.9 | 32.4 ± 1.5 | 28.9 ± 1.4 |
| 500 | 30.2 ± 1.7 | 18.6 ± 1.3 | 15.4 ± 1.2 |

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار هستند؛<p>/3 = n

[ Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02 ]

**اثر درمانی EC-EO بر کاهش بار تومور پستان**

وزن بدن در تمام گروه‌ها طی دوره ۶ هفته‌ای درمان افزایش یافت. گروه NC بیشترین افزایش وزن (۱۲۵/۶٪) را نشان داد، در حالی که گروه Tam کمترین افزایش وزن (۷۰/۱٪) را داشت.($p < 0.05$) پارامترهای تومور در جدول ۴ خلاصه شده‌اند. گروه NC بالاترین نرخ تومورهای باقیمانده (قابل لمس) (۱۰۰ درصد) و میانگین وزن تومور $4.82 \pm 0.51$ (g را نشان داد. درمان با LDE و HDE به طور قابل توجهی وزن تومور را به ترتیب به $2.95 \pm 0.38$ g (مهار ۳۸/۸ درصد) و $2.14 \pm 0.29$ g (مهار ۵۵/۶٪) کاهش داد ($p < 0.001$ در مقایسه با NC). تاموکسیفن بیشترین مهار را نشان داد (۷۴/۳٪).

**جدول ۳: پارامترهای تومور در گروه‌های درمانی**

**Table 3: Tumor parameters in treatment groups**

| Group | Residual (palpable) tumors at the end of the period (٪) | Average tumor weight (g) | Control (٪) | Tumor volume ($cm^3$) |
|---|---|---|---|---|
| NC | 100 | $4.82 \pm 0.51$ | - | $3.45 \pm 0.32$ |
| LDE | 70 | $2.95 \pm 0.38$ | 38.8 | $2.12 \pm 0.25$ |
| HDE | 50 | $2.14 \pm 0.29$ | 55.6 | $1.58 \pm 0.21$ |
| Tam | 30 | $1.24 \pm 0.19$ | 74.3 | $0.89 \pm 0.15$ |
| HC | 0 | - | - | - |

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار هستند؛$n = 10$ ؛ $p < 0.001$ در مقایسه با NC برای گروه‌های تیمار شده

**اثر اسانس بر ساختار غدد پستانی رت‌ها (هیستوپاتولوژی)**

از هر بافت تومور، ۳ مقطع جداگانه تهیه شد. یک پاتولوژیست که نسبت به گروه‌بندی حیوانات کور (Blinded) بود، ضایعات بافتی را با سیستم نیمه‌کمی ارزیابی کردیم. بررسی هیستوپاتولوژیک با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) تفاوت‌های مشخصی را در مورفولوژی تومور و شدت ضایعات پاتولوژیک نشان داد.

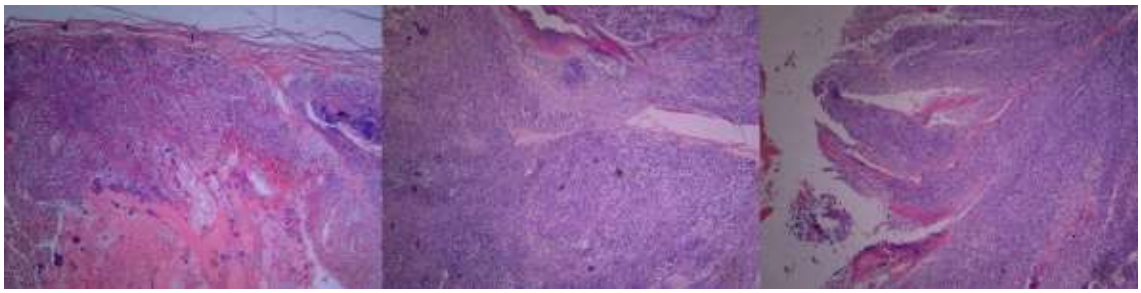


**Figure 1: Histopathological examination of breast tumor tissue (H&E staining, 10x magnification). Image to the right: high-dose treatment group (HDE), indicating reduced cell density and relative preservation of ductal structures. Middle image: low-dose treatment group (LDE), indicating a relative decrease in necrosis. Left image: negative control group (NC), indicating severe hypercellularity and large areas of necrosis (pink tissues).**

**شکل ۱: بررسی هیستوپاتولوژیک بافت تومور پستان (رنگ‌آمیزیH&E، بزرگنمایی x۱۰). تصویر سمت راست :گروه تیمار با دوز بالا(HDE)، نشان‌دهنده کاهش تراکم سلولی و حفظ نسبی ساختارهای داکتال. تصویر وسط: گروه تیمار با دوز پایین(LDE)، به علاوه نشان‌دهنده کاهش نسبی نکروز. تصویر سمت چپ: گروه کنترل منفی(NC)، نشان‌دهنده هیپرسلولاریتی شدید و نواحی وسیع نکروز (بافت‌های صورتی‌رنگ)**

**گروه NC (کنترل منفی- اسلاید ۲):** شدیدترین ویژگی‌های پاتولوژیک، شامل هیپر سلولاریتی شدید (تراکم بالای سلول‌های توموری با هسته‌های تیره)، پلئومورفیسم هسته‌ای شدید (تنوع در اندازه و شکل هسته‌ها)، تهاجم گسترده تومور به استرومای اطراف، نواحی وسیع نکروز (مرگ بافتی) و واکنش دسموپلاستیک (desmoplastic) قوی (بافت همبند فیبری ضخیم) را نشان داد که همگی نشان‌دهنده یک کارسینوم پیشرفته و تهاجمی بود.

[ Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02 ]

**گروه LDE (دوز پایین – اسلاید ۱):** بهبود متوسطی را نشان داد. هیپرسلولاریتی و پلئومورفیسم هسته‌ای همچنان مشهود بود، اما درجه آناپلازی کمتر شدید به نظر می‌رسید. کانون‌های نکروز کوچک‌تر و تهاجم کمتر نامنظم بود.

**گروه HDE (دوز بالا – اسلاید ۳):** بهبود قابل توجهی را نشان داد. تراکم سلول‌های توموری کمتر بود، پلئومورفیسم هسته‌ای متوسط بود. تهاجم تومور کمتر تهاجمی بود و بقایای ساختارهای داکتال (مجرایی) قابل مشاهده بود، که نشان‌دهنده حفظ نسبی معماری طبیعی و تمایز متوسط تومور است.

**گروه Tam (کنترل مثبت):** حداقل حضور سلول‌های توموری و معماری عمدتاً طبیعی غده پستانی را نشان داد. هیچ تهاجم یا نکروزی مشاهده نشد که نشان‌دهنده سرکوب مؤثر تومور بود.

**گروه HC (کنترل سالم):** بافت‌شناسی طبیعی غده پستانی را نشان داد.

به‌طور خلاصه، بهبود هیستوپاتولوژیک پیشرونده از گروه NC (شدیدترین) به LDE (متوسط) و HDE (بهبود قابل توجه)، نشان‌دهنده اثربخشی وابسته به دوز EC-EO بر بافت سرطانی است.

**اثر اسانس بر پارامترهای هماتولوژیک (خون‌شناسی)**

پارامترهای خونی در پایان هفته ششم ارزیابی شدند (جدول ۴).

در مقایسه با گروه HC، گروه NC-DMBA کاهش قابل توجهی در گلبول‌های قرمز(RBC)، هموگلوبین (Hb) و هماتوکریت (Hcte) نشان داد ($p<0.05$) که منعکس کننده کم‌خونی (anemia) ناشی از استرس سیستمیک تومور است. همچنین افزایش قابل توجهی در پلاکت‌ها (PLT) ($p < 0.05$) نشان‌دهنده ترومبوسیتوز ناشی از تومور) و مونوسیت‌ها ($p < 0.05$) (MONO) (نشان‌دهنده پاسخ التهابی) مشاهده شد.

درمان با LDE این پارامترها را تا حدی اصلاح کرد. درمان با HDE به طور کامل این پارامترها را نرمال کرد و مقادیر RBC، Hb، Hcte، PLT و MONO را به سطوح مشابه با گروه‌های HC و Tam بازگرداند ($p < 0.05$ در مقایسه باNC-DMBA ) .این نشان می‌دهد که EC-EO کم‌خونی و التهاب مرتبط با تومور را کاهش می‌دهد.

شاخص‌های گلبول قرمز (MCV, MCH, MCHC) تفاوت معناداری بین گروه‌ها نداشتند($p > 0.05$).

**جدول ۴: اثر اسانس *Echinophora cinerea* بر پارامترهای هماتولوژیک در پایان دوره آزمایش**

**Table 4: Effect of *Echinophora cinerea* essential oil on hematological parameters at the end of the test period**

| Parameters | NC (Healthy Control) | NC (DMBA) | LDE (50 mg/kg EC-EO) | HDE (100 mg/kg EC-EO) | Tam (5 mg/kg Tamoxifen) |
|---|---|---|---|---|---|
| WBC (×10³/µL) | $10.50 \pm 0.41^{a}$ | $12.80 \pm 0.87^{a}$ | $11.95 \pm 0.62^{a}$ | $10.85 \pm 0.73^{a}$ | $10.62 \pm 0.49^{a}$ |
| RBC (×10⁶/µL) | $8.15 \pm 0.67^{a}$ | $5.42 \pm 0.81^{b}$ | $7.10 \pm 0.54^{ab}$ | $8.05 \pm 0.39^{a}$ | $7.92 \pm 0.63^{a}$ |
| Hb (g/dL) | $14.10 \pm 1.22^{a}$ | $9.45 \pm 1.33^{b}$ | $11.20 \pm 0.98^{bc}$ | $13.95 \pm 0.45^{a}$ | $13.35 \pm 0.71^{ac}$ |
| PLT (×10³/µL) | $410.33 \pm 29.54^{ac}$ | $550.00 \pm 41.23^{b}$ | $475.67 \pm 18.92^{ab}$ | $445.33 \pm 22.15^{c}$ | $460.67 \pm 27.84^{c}$ |
| LYMP (%) | $70.25 \pm 7.83^{a}$ | $85.60 \pm 6.12^{a}$ | $80.45 \pm 4.91^{a}$ | $75.80 \pm 5.37^{a}$ | $78.15 \pm 4.02^{a}$ |
| MONO (%) | $4.95 \pm 0.76^{ab}$ | $6.75 \pm 0.59^{b}$ | $5.60 \pm 0.48^{ab}$ | $4.70 \pm 0.33^{a}$ | $4.85 \pm 0.41^{a}$ |
| Hcte (%) | $51.20 \pm 2.04^{acd}$ | $42.15 \pm 3.47^{b}$ | $46.80 \pm 3.12^{ab}$ | $52.45 \pm 1.78^{cd}$ | $50.10 \pm 4.33^{acd}$ |
| MCV (fL) | $62.80 \pm 2.11^{a}$ | $66.95 \pm 3.02^{a}$ | $64.50 \pm 1.95^{a}$ | $63.10 \pm 1.47^{a}$ | $63.45 \pm 2.19^{a}$ |
| MCH (pg) | $17.35 \pm 0.38^{a}$ | $17.65 \pm 0.92^{a}$ | $16.95 \pm 0.67^{a}$ | $17.25 \pm 0.24^{a}$ | $16.85 \pm 0.53^{a}$ |
| MCHC (g/dL) | $27.55 \pm 0.51^{a}$ | $26.30 \pm 0.68^{a}$ | $27.10 \pm 1.23^{a}$ | $26.85 \pm 0.39^{a}$ | $26.65 \pm 0.32^{a}$ |

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار (SD) ارائه شده‌اند ($n = 10$). در هر گروه (حروف بالانویس مختلف ,$^{a}$) ($^{b}$, $^{c}$, $^{d}$) نشان‌دهنده تفاوت‌های معنادار بین گروه‌ها هستند ($p < 0.05$).

اختصارات: WBC گلبول‌های سفید خون؛ RBC: گلبول‌های قرمز خون؛ Hb: هموگلوبین؛ PLT: پلاکت‌ها؛ LYMP: لنفوسیت‌ها؛ MONO: مونوسیت‌ها؛ Hcte: هماتوکریت؛ MCV: میانگین حجم گلبولی؛ MCH: میانگین هموگلوبین گلبولی؛ MCHC: میانگین غلظت هموگلوبین گلبولی

## بحث

در نهایت در مدل حیوانی *in vivo*، دوز بالای اسانس (HDE) مهار قابل توجه ۵۵/۶٪ در وزن تومور و کاهش

[ Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02 ]

٪۵۰ در بروز تومور را نشان داد، در حالی که تاموکسیفن مهار ٪۷۴/۳ داشت. این نتایج با گزارش Rojas-Armas و همکاران (۲۰۲۰) (۱۴) که کاهش قابل توجه حجم تومور را با اسانس *Cymbopogon citratus* و کارواکرول در مدل مشابه نشان دادند، همخوانی دارد. تحلیل هیستوپاتولوژی نیز این اثربخشی را تأیید کرد؛ کاهش وابسته به دوز در هیپرسلولاریتی، پلئومورفیسم هسته‌ای، نکروز و تهاجم در تومورها مشاهده شد. این بهبودی بافتی با فعالیت‌های ضد رگ‌زایی (antiangiogenic) و ضد تکثیری ترپنوئیدها، مانند مهار فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) مطابقت دارد (۱۱، ۱۵).

پارامترهای هماتولوژیک شواهد بیشتری از اثر سیستمیک EC-EO ارائه دادند. کم‌خونی (کاهش RBC, Hb, Hcte) و ترومبوسیتوز (افزایش PLT) در گروه DMBA، منعکس‌کننده استرس سیستمیک مرتبط با تومور (سندرم‌های پارانئوپلاستیک) بود. درمان با HDE این پارامترها را به سطح کنترل سالم و تاموکسیفن بازگرداند، که نشان‌دهنده کاهش بار تومور و بهبود استرس اکسیداتیو است. این یافته‌ها با شواهد Rojas-Armas et al. ((2022) (۱۵) که در آن اسانس *Annona muricata* باعث بهبود GSH و کاهش MDA در مدل موشی سرطان پستان شد، هماهنگ است.

هدف اصلی این پژوهش، بررسی اثرات درمانی عصاره اسانسی *Echinophora cinerea* بر کاهش بار تومور در مدل موش صحرایی مبتلا به سرطان پستان و اثرات سایتوتوکسیک آن بر سلول‌های MCF-7 بود. مهم‌ترین یافته کاربردی این تحقیق آن است که اسانس *Echinophora cinerea* (EC-EO)، به‌ویژه در دوز بالا (100 mg/kg)، دارای فعالیت ضد توموری قابل توجهی در مدل رت سرطان پستان القا شده با DMBA است و همچنین اثرات سیتوتوکسیک مستقیمی بر رده سلولی MCF-7 دارد.

پروفایل فیتوشیمیایی EC-EO نشان‌دهنده حضور غالب ترپنوئیدها (85.63 mg/g) و فنولیک‌ها (45.12 mg/g) بود. آنالیز GC-MS ترکیبات آلفا-فلاندرن (٪۱۸.۵۰) و پی-سایمن (٪۱۲.۹۹) را به عنوان اجزای اصلی شناسایی کرد. این یافته‌ها با گزارش قبلی (Ghasemi Pirbalouti (2016) & Gholipour) (۱۰)که آلفا-فلاندرن (۴۰-۴۲/۵۴.۸۷٪) را به عنوان ترکیب غالب گزارش کردند، مطابقت دارد. فراوانی ترپنوئیدها احتمالاً مسئول اصلی فعالیت زیستی مشاهده شده است، زیرا مونوترپن‌هایی مانند آلفا-فلاندرن و پی-سایمن به‌طور گسترده با فعالیت‌های ضدتکثیری و پیش-آپوپتوزی علیه سلول‌های سرطانی مرتبط بوده‌اند (۱۱،۱۲). پتانسیل آنتی‌اکسیدانی قوی IC50 ( EC-EO در :ABTS) 32.15 µg/mL نیز با ترکیب فنولی و ترپنوئیدی آن همخوانی دارد و پتانسیل آن را برای مهار استرس اکسیداتیو (عامل کلیدی در سرطان‌زایی) توجیه می‌کند (۱۳).

در مطالعه *in vitro*، EC-EO سمیت سلولی وابسته به دوز و زمان را علیه سلول‌های MCF-7 نشان داد ( :IC50 98.45 µg/mL در ۴۸ ساعت). اگرچه این مقدار از تاموکسیفن (IC50 = 12.33 µg/mL) ضعیف‌تر است، اما با توجه به ماهیت چندهدفی (pleiotropic) اسانس‌ها، یک یافته رقابتی در میان ترکیبات طبیعی محسوب می‌شود. این سمیت احتمالاً به دلیل اختلال در یکپارچگی غشای سلولی و القای آپوپتوز توسط ترپنوئیدها است (۱۱،۱۴).

اگرچه اثربخشی EC-EO کمتر از تاموکسیفن (استاندارد شیمیایی) بود، اما تحمل‌پذیری و عوارض جانبی پایین آن (براساس روند طبیعی افزایش وزن بدن که افزایش وزن ثابت بدن همراه با عدم آسیب شدید بافتی مشهود است) آن را به‌عنوان یک گزینه بالقوه برای درمان کمکی (adjuvant) واجد شرایط می‌کند. آسیب‌پذیری‌های معمول اسانس‌ها مانند فراریت و حلالیت ضعیف ( ۱۶)، می‌تواند با فناوری‌هایی مانند نانوتکنولوژی برطرف شود (۱۷،۱۸). نقاط قوت این مطالعه در رویکرد جامع آن (ترکیب فیتوشیمی، *in vitro* و *in vivo*) نهفته است. نقاط ضعف شامل عدم وجود تحقیقات مکانیسمی عمیق (مانند مسیرهای آپوپتوز یا VEGF) و اطلاعات سمیت طولانی‌مدت است. (توجه: موارد مکانیسمی نظیر القای آپوپتوز یا مهار فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) در این پژوهش مستقیماً اندازه‌گیری نشدند. این مسیرها صرفاً بر اساس مطالعات پیشین به عنوان مکانیسم‌های احتمالی مطرح هستند.)

## نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که اسانس *Echinophora cinerea* (EC-EO)، سرشار از ترکیبات زیست‌فعال به‌ویژه ترپنوئیدها و فنولیک‌ها، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و

[ Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02 ]

سیتوتوکسیک است. در مدل حیوانی، اسانس باعث کاهش وابسته به دوز در بروز، وزن و حجم تومور و بهبود قابل توجه تغییرات هیستوپاتولوژیک شد. اگرچه قدرت آن کمتر از تاموکسیفن است، اما ایمنی و اثرات سیستمیک مفید EC-EO، به‌ویژه نرمال‌سازی پارامترهای خونی، آن را به عنوان یک گزینه بالقوه برای درمان‌های کمکی در انکولوژی مطرح می‌کند. کاهش چشمگیر حجم تومورهای تشکیل شده، بهبود ضایعات بافتی و اصلاح پروفایل هماتولوژیک حیوانات، نشان می‌دهد که این اسانس می‌تواند کاندیدای ارزشمندی جهت مطالعات تکمیلی به عنوان یک داروی کمکی (Adjuvant Therapy) در رژیم‌های درمانی سرطان پستان باشد. این یافته‌ها راه را برای مطالعات آتی جهت بررسی عمیق‌تر مکانیسم‌های اثر و توسعه سیستم‌های نوین دارورسانی هموار می‌سازد.

## تضاد منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در ارتباط با این پژوهش وجود ندارد.

## سپاسگزاری

در ویرایش متون داخل مقاله به منظور تنظیم داخل فرمت و همچنین تحلیل بخشی از دیتاهای مقاله از هوش مصنوعی کمک گرفته شده است ضمناً از تمامی عزیزانی که در اجرای این پژوهش همکاری داشتند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

## منابع

1. World Flora Online. *Echinophora cinerea* (Boiss.) Hedge & Lamond. 2022. Available from: .
2. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Vitic. 1965;16(3):144-58.
3. Aiyegoro OA, Okoh AI. Preliminary phytochemical screening and in vitro antioxidant activities of the aqueous extract of *Helichrysum longifolium* DC. BMC Complement Altern Med. 2010;10:21. DOI: 10.1186/1472-6882-10-21.
4. Shamsa F, Monsef H, Ghamooshi R, Verdian-rizi M. Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants. Thai J Pharm Sci. 2008;32:17-20.
5. Bainbridge Z, Tomlins K, Westby A. Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. Chatham, UK: Natural Resources Institute; 1996.
6. Ghorai N, Chakraborty S, Gucchait S, Saha SK, Biswas S. Estimation of total terpenoids concentration in plant tissues using a monoterpene, Linalool as standard reagent. Protocol Exchange. 2012. DOI: 10.1038/protex.2012.055.
7. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med. 1999;26(9-10):1231-7. DOI: 10.1016/s0891-5849(98)00315-3.
8. Jayaprakasha GK, Singh RP, Sakariah KK. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models *in vitro*. Food Chem. 2001;73(3):285-90. DOI: 10.1016/S0308-8146(00)00298-3.
9. Faustino-Rocha AI, Oliveira PA, Pinho-Oliveira J, Teixeira-Guedes C, Soares-Maia R, da Costa RG, et al. Estimation of rat mammary tumor volume using caliper and ultrasonography measurements. Lab Anim (NY). 2013;42(6):217-24. DOI: 10.1038/laban.204.
10. Ghasemi Pirbalouti A, Gholipour Z. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oil from *Echinophora cinerea* harvested at two phenological stages. J Essent Oil Res. 2016;28(6):501-11. DOI: 10.1080/10412905.2016.1176822.
11. Gautam N, Mantha AK, Mittal S. Essential oils and their constituents as anticancer agents: a mechanistic overview. Biomed Res Int. 2014;2014:154106. DOI: 10.1155/2014/154106.
12. de Sousa DP, de Almeida RN. $\alpha$-Phellandrene: A review of its pharmacology, toxicity, and metabolism. Rev Bras Farmacogn. 2017;27(1):122-8.
13. Mustapa AN, Martin A, Amat N, Aziz AA. Anti-Breast Cancer Activity of Essential Oil: A Systematic Review. Molecules. 2022;27(24):8749. DOI: 10.3390/molecules27248749.
14. Rojas-Armas JP, Arroyo-Acevedo JL, Palomino-Pacheco M, Yáñez-Cárdenas I, Orizola-Soplin C, Ruiz-Quiroz J, et al. The Essential Oil of *Cymbopogon citratus* Stapt

[ Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02 ]

and Carvacrol: An Approach of the Antitumor Effect on 7,12-Dimethylbenz-[$\alpha$]-anthracene (DMBA)-Induced Breast Cancer in Female Rats. Molecules. 2020;25(14):3299. DOI: 10.3390/molecules25143299.

15. Rojas-Armas JP, Palomino-Pacheco M, Yáñez-Cárdenas I, Orizola-Soplin C, Delgado-Pérez P, Alarcón-Vásquez B, et al. Phytochemical Constituents and Ameliorative Effect of the Essential Oil from *Annona muricata* L. Leaves in a Murine Model of Breast Cancer. Molecules. 2022;27(6):1869. DOI: 10.3390/molecules27061869.
16. Blowman K, Magalhães M, Lemos MFL, Cabral C, Pires IM. Anticancer Properties of Essential Oils and Other Natural Products. Evid Based Complement Altern Med. 2018;2018:3149362. DOI: 10.1155/2018/3149362.
17. Zahra AA, Susanti I. Review Development of Essential Oil Nano Preparation Formulations to Pharmacological Activity. J Pharm Sci. 2023;6(2):381-7. DOI: 10.36490/journal-jps.com.v6i2.95.
18. Russo R, Russo GL. The role of p-cymene in the anticancer activity of essential oils. Cancers (Basel). 2021;13(4):835.

[ Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-02 ]