

تأثیر نیترات نقره و سالیسیلیک اسید بر تولید تاکسول در گیاه *Taxus baccata* L.غلامرضا اصغری^{۱*}، اکبر مستأجران^۲، حجت‌اله صادقی علی‌آبادی^۳، اعظم نخعی^۴

۱- استاد، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان

۲- استاد، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان

۳- استاد، گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان

۴- داروساز، گروه فارماکوتوزی، دانشکده داروسازی اصفهان، اصفهان

*آدرس مکاتبه: اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، دانشکده داروسازی، کدپستی: ۷۳۴۶۱-۸۱۷۴۶

تلفن: ۷۹۲۲۶۴۴ (۰۳۱۱)، نمابر: ۶۶۸۰۰۱۱ (۰۳۱۱)

پست الکترونیک: asghari@pharm.mui.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۸/۱/۳۰

تاریخ تصویب: ۹۰/۱/۲۵

چکیده

مقدمه: تاکسول یک داروی ضدسرطان بسیار مؤثر است که در ابتدا از پوست درخت گیاه سرخدار با نام علمی *Taxus brevifolia* L. جداسازی شد. این دارو در درمان اشکال پیشرفته‌ای از سرطان‌های سینه و تخمدان به کار می‌رود. در دو دهه گذشته، افزایش درخواست تاکسول و محدودیت در تهیه آن از گیاه سبب شد که مطالعات بر تولید تاکسول از روش‌های مختلف از جمله کشت سلولی آغاز شود. استفاده از محرک‌ها در کشت سلولی گیاه موجب بهبود تولید تاکسول شد.

هدف: در این مطالعه تأثیر محرک‌های نیترات نقره و سالیسیلیک اسید به صورت تنها و مخلوط بر میزان تولید تاکسول در گیاه *T. baccata* به روش تزریق مستقیم با قطع شاخه فرعی گیاه بررسی شد.

روش بررسی: غلظت‌های مختلف از محرک‌ها تهیه و به وسیله لوله رابط به شاخه گیاه متصل تا مواد به صورت مستقیم در اختیار گیاه قرار گیرد. پس از گذشت ۳۰ روز نمونه‌گیری از سرشاخه‌های گیاه انجام شد. برگ گیاه پودر و به روش ماسراسیون با اتانول ۹۶ درجه عصاره‌گیری شد. میزان تاکسول عصاره‌ها به وسیله دستگاه HPLC آنالیز شد.

نتایج: تزریق محلول‌های نیترات نقره و سالیسیلیک اسید سبب کاهش معنی‌دار در تولید تاکسول نسبت به کنترل شد همچنین با افزایش غلظت محرک‌ها کاهش بیشتری در تولید تاکسول مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: محلول‌های نیترات نقره و سالیسیلیک اسید به صورت تنها و مخلوط تأثیر منفی بر تولید تاکسول داشتند. به نظر می‌رسد فهم بیشتر برای علت این موضوع به تحقیق در مکانیسم عملکرد این مواد در گیاه نیاز دارد.

کل واژگان: تاکسول، *Taxus baccata* L.، سرخدار، نیترات نقره، اسید سالیسیلیک



مقدمه

تاکسول به عنوان یکی از مهم‌ترین داروهای ضدسرطان برای اولین بار از پوست گیاه *Taxus brevifolia* استخراج شد [۱]. گیاه *Taxus baccata* L. با نام عمومی سرخدار در ارتفاعات ۹۰۰ تا ۱۸۰۰ متری از سطح دریا و تقریباً در تمام نوار جنگلی شمال ایران رویش دارد [۲]. جنگل‌های سرخدار از جمله جنگل‌های پیر جهان به حساب می‌آیند. میزان تاکسول در گیاه اندک است به طوری که نسبت وزن تاکسول تولیدی به وزن پوست گیاه برابر با ۱:۶۷۰۰ می‌باشد. به همین دلیل برای استخراج یک کیلوگرم تاکسول خالص از پوست گیاه *T. brevifolia* لازم است تا حدود ۶۷ تن پوست درخت فراهم شود که به این منظور تقریباً ۳۰۰۰ - ۲۰۰۰ درخت مورد نیاز است. جداسازی پوست این درختان سبب آسیب جدی و در نهایت نابودی آنها می‌شود [۳]. استفاده از این گیاه برای تولید صنعتی تاکسول به صرفه نیست زیرا گونه‌های سرخدار از گونه‌های گیاهی کمیاب به شمار می‌روند و رشد این درختان نیز بسیار کند است. به همین دلیل کشت نهال سرخدار و توسعه جنگل‌های آن بسیار مورد توجه قرار گرفته است. در هر حال یکی از روش‌های عملی برای تولید تاکسول و پیش‌سازهای لازم در روش نیمه سنتزی، استفاده از چوب و سرشاخه‌های گیاه می‌باشد [۴].

کشت سلولی گیاه یکی از راه‌های جایگزین برای تولید تاکسول می‌باشد. تلاش در جهت افزایش تولید تاکسول در محیط کشت سلولی گیاه تاکنون نظر بسیاری از محققین را به خود جلب کرده است. از جمله روش‌های مورد استفاده تحریک سنتز تاکسول توسط مواد بیولوژیک و یا غیربیولوژیک در محیط کشت می‌باشد [۵]. محرک‌های به کار رفته بسیار متنوع‌اند و روی مسیرهای مختلفی از بیوسنتز تاکسول دخالت می‌کنند. در این راستا استفاده از نیترات نقره، سیترا آمونیوم، متیل جاسمونات، اسید سالیسیلیک و اسید آراشیدونیک برای تحریک تولید تاکسول گزارش شده است [۶،۷].

از اسید سالیسیلیک و محرک قارچی که از قارچ‌های جدا شده از پوست درخت *T. Chinensis* تهیه شده است به تنهایی و به صورت مخلوط در محیط کشت سلولی *T. Chinensis* استفاده شد و اثرات این دو محرک بر میزان تولید تاکسول در محیط کشت بررسی شد. نتایج به دست آمده نشان داد که هر یک از این دو محرک به تنهایی و همچنین مخلوط آنها سبب افزایش سنتز تاکسول در محیط کشت می‌شود [۸].

تأثیر متیل جاسمونات در افزایش سنتز تاکسول در محیط کشت کاملاً به اثبات رسیده است [۴]. از جمله دیگر محرک‌های به کار رفته، وانادیل سولفور، چیتوزان و مخلوط متیل جاسمونات و اتیلن بوده است که همگی افزایش تولید تاکسول را در محیط کشت نشان داده‌اند و حتی در مورد مخلوط متیل جاسمونات و اتیلن مقدار تاکسول تا ۱۸ برابر نسبت به کنترل افزایش پیدا کرد [۹].

تزریق ترکیبات به گیاه از روش‌های متداول در مبارزه با آفت‌های گیاهی است [۱۰، ۱۱]. گزارش شده است که تزریق ترکیبات شیمیایی به گیاهان بر میزان متابولیت‌های ثانویه گیاه مثل پلی‌فنل‌ها موثر است [۱۲]. با توجه به مطالعه منتشر شده در خصوص افزایش تولید تاکسول در محیط کشت سلولی گیاه سرخدار به علت تأثیر دو محرک نیترات نقره و اسید سالیسیلیک در این مطالعه تأثیر دو محرک مذکور بر میزان تولید تاکسول در گیاه به روش تزریق مستقیم محرک‌ها به گیاه بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه محلول محرک‌ها

محلول‌های نیترات نقره (سیگما) و اسید سالیسیلیک (سیگما) با دو غلظت ۰/۱ و ۱ گرم در لیتر و مخلوط نیترات نقره و اسید سالیسیلیک با دو غلظت ۰/۱ و ۱ گرم در لیتر در



شماره درخت روی آن چسبانده شد. شکل شماره ۱ تصویر گیاه *T. baccata* و تزریق محلول محرک‌ها را نشان می‌دهد.

تهیه نمونه‌های گیاهی

۳۰ روز پس از اتصال وسایل تزریق به گیاهان، میزان محلول تزریق شده به گیاه از روی محفظه سرم اندازه‌گیری و ثبت شد و در نهایت وسایل تزریق از همه درختان جدا شد. سپس سرشاخه‌های بالایی گیاهان تیمار شده و شاهد برداشت شد. برگ‌های گیاه جدا و در دمای اتاق و در سایه خشک شد. پس از خشک شدن کامل برگ‌ها، نمونه شاهد و تیمار به طور جداگانه خرد، بسته‌بندی و برچسب گذاری شد و سپس همه نمونه‌ها در دمای ۸ - ۲ درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز تاکسول نگهداری شدند.

استخراج تاکسول

۵ میلی‌لیتر هگزان روی یک گرم از پودر گیاه الک شده با مش ۱۶ در داخل لوله آزمایش درب‌دار ریخته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و دور از نور قرار گرفت. سپس لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۲۰۰۰ rpm سانتریفوژ شدند [۱۳]. در پایان هگزان جدا شده دور ریخته شد. هگزان جهت جداسازی لیپیدهای موجود در پودر گیاهی به کار گرفته شد [۱۴]. سپس مقدار ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درجه روی پودر گیاهی ریخته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و دور از نور نگهداری شد [۱۵، ۱۶]. پس از این مدت، نمونه‌ها به مدت

آب مقطر دو بار تقطیر تهیه شد. از هر محلول مقدار ۳۰۰ میلی‌لیتر به درون محفظه سرم انتقال داده شد. لازم به ذکر است که از هر محلول تزریقی ۳ تکرار تهیه شد.

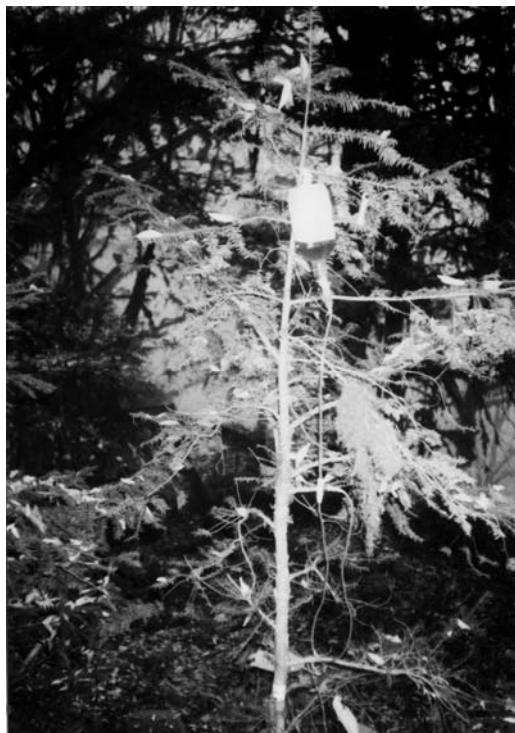
تزریق محرک‌ها به گیاه سرخدار

محدوده عملیاتی این پروژه در ارتفاعات اطراف روستای افرا تخته، واقع در جنگل‌های زرین‌کوه شهرستان علی‌آباد کتول، استان گلستان قرار داشت. اتصال وسایل تزریق به درختان با استفاده از روش قطع شاخه فرعی انجام گرفت. در ابتدا درختان یکسان و مناسب برای اجرای آزمایش انتخاب و روی تنه درخت برچسب نشان‌دهنده شماره درخت چسبانده شد. یکی از شاخه‌های فرعی پایین تنه درخت که حدوداً یک سانتی‌متر قطر داشت، انتخاب شده و از فاصله ۱۰ سانتی‌متری ساقه اصلی، توسط قیچی باغبانی قطع شد. سپس محفظه سرم حاوی محلول محرک (جدول شماره ۱) از طریق لوله رابط (حدود ۱۰ سانتی‌متر) به محل قطع شده شاخه فرعی متصل شد. قبل از وصل لوله‌های رابط، با باز کردن پیچ تنظیم سرعت جریان، این لوله‌ها هواگیری شده و به محل شاخه قطع شده متصل شد. فاصله باکستر از محل اتصال لوله رابط به شاخه فرعی به صورت یکنواخت و حدود ۵۰ سانتی‌متر بود. در این مرحله قبل از اتصال محفظه‌های حاوی محرک به گیاه، یکی از شاخه‌های گیاه به طول ۵۰ سانتی‌متر به عنوان نمونه شاهد جهت آنالیز مقادیر نمونه‌های گیاه جدا شد که سعی شد این شاخه از قسمت‌های مجاور محل تزریق باشد و برچسب

جدول شماره ۱- محرک‌های تزریق شده و غلظت‌های مختلف آنها

غلظت (g/l)	نوع محرک
۰/۱	نیترات نقره
۱	نیترات نقره
۰/۱	سالیسیلیک اسید
۱	سالیسیلیک اسید
۰/۱ + ۰/۱	نیترات نقره + سالیسیلیک اسید
۱ + ۱	نیترات نقره + سالیسیلیک اسید





شکل شماره ۱- تصویر گیاه *T. baccata* و نحوه تزریق محرک‌ها

۰/۰۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر رسید. نمونه‌ها تا زمان تزریق به دستگاه HPLC در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

آنالیز نمونه‌ها با دستگاه HPLC

رسم منحنی استاندارد تاکسول

برای رسم منحنی استاندارد تاکسول (هدیه دانشکده داروسازی تورنتو کانادا) محلول‌های استاندارد با غلظت‌های ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر که حاوی مقدار ۰/۰۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر سینامیل استات به عنوان استاندارد داخلی بودند، به ترتیب از غلظت کم به زیاد به دستگاه HPLC تزریق شدند.

آنالیز عصاره‌های گیاهی با دستگاه HPLC

۲۰ میکرولیتر از عصاره‌های نمونه‌ها به دستگاه HPLC تزریق شدند. ستون مورد استفاده از نوع C₁₈ با ابعاد

۷ دقیقه و رتکس شده و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۲۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد. این مراحل سه بار تکرار شد. به منظور جداسازی ترکیبات مزاحم تاننی روی عصاره اتانولی ۳ میلی‌لیتر محلول آبکی استات سرب ۱۰ درصد اضافه شد [۱۷]. بعد از بهم زدن با ورتکس به مدت ۷ دقیقه با دور ۲۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد. محلول رویی شفاف از رسوب جدا و خشک شد [۱۵].

به نمونه خشک شده، مقدار ۵ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر و ۵ میلی‌لیتر اتیل استات اضافه شد و به مدت ۲ دقیقه تکان داده شد تا عصاره وارد مخلوط آب و اتیل استات شود. عصاره‌های اتیل استاتی جدا و خشک شد [۱۸، ۱۳]. سپس به عصاره خشک شده مقدار ۱۰ میلی‌لیتر متانول حل شد. ۱ میلی‌لیتر از عصاره متانولی به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۵۰۰۰ rpm سانتریفوژ و سپس توسط فیلتر ۰/۲۲ μm فیلتر شد. با اضافه کردن سینامیل استات به عنوان استاندارد داخلی در هر عصاره غلظت آن به



آنالیز عصاره‌های گیاهی توسط دستگاه HPLC

نمونه‌ای از کروماتوگرام‌های حاصل از تزریق این عصاره‌ها به دستگاه HPLC در شکل شماره ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که در این کروماتوگرام‌ها دیده می‌شود، پیک مربوط به استاندارد داخلی حدوداً در دقیقه ۹/۲ و پیک تاکسول نیز حدوداً در دقیقه ۱۵/۲ ظاهر شده است. فاصله ۶ دقیقه‌ای بین دو پیک، آنها را کاملاً از یکدیگر مجزا ساخته است و از طرفی پیک استاندارد داخلی با پیک دیگری تداخل ندارد.

اثر محرک‌های مختلف بر میزان تولید تاکسول در گیاه

همان‌طور که در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است، بررسی آماری نتایج فوق بر اساس ANOVA در سطح $p < 0.01$ نشان می‌دهد که در تزریق جداگانه و یا مخلوط محلول نیترات نقره و سالیسیلیک اسید، تولید تاکسول در گیاه *T. baccata* نسبت به کنترل افزایش نیافته است. در تزریق مخلوط نیترات نقره + سالیسیلیک اسید میانگین مقدار تاکسول در مقایسه با میانگین مقدار تاکسول در محلول‌های نیترات نقره تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد ولی هر یک از تیمارها در غلظت‌های متفاوت از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهند.

۱۰۰ × ۶/۴ میلی‌متر بود که به یک پیش ستون از همان جنس متصل می‌شد. دستگاه به ردیاب UV وصل شده در تنظیمات داخلی دستگاه، جریان فاز متحرک ۱ ml/min، زمان حرکت نمونه ۲۵ دقیقه و طول موج ردیاب UV روی ۲۵۴ نانومتر تنظیم شد. فاز متحرک مورد استفاده نیز به ترتیب آب - محلول استونیتریل (۴۰:۶۰) بود.

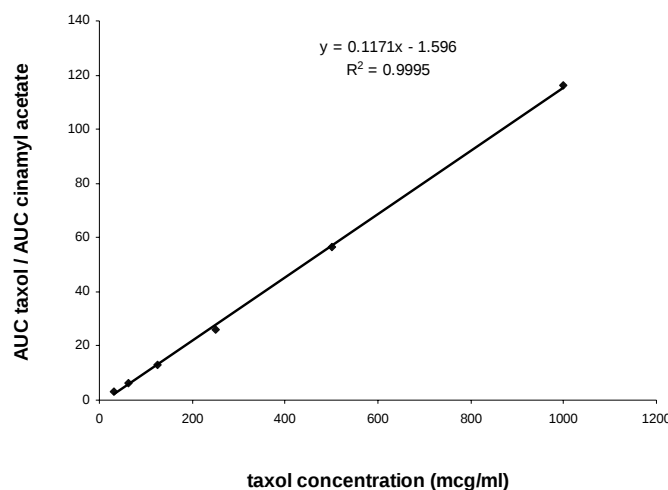
بررسی آماری نتایج

نتایج به دست آمده، براساس آنالیز واریانس داده‌ها (ANOVA) تجزیه و تحلیل شد، میانگین‌ها به روش LSD مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج

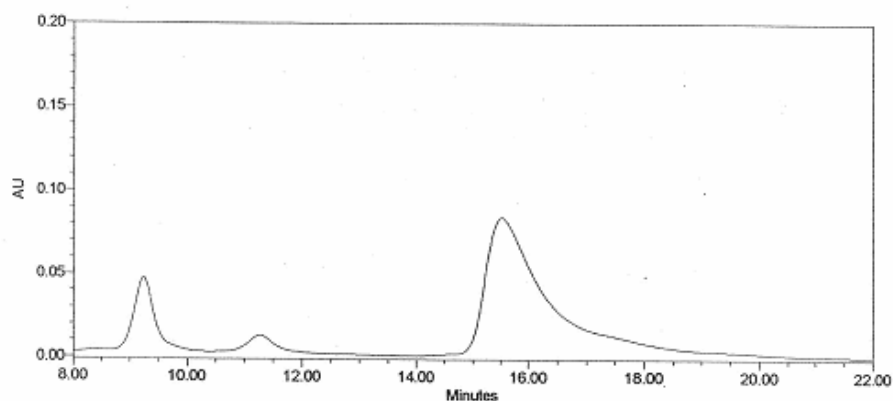
منحنی استاندارد تاکسول

منحنی استاندارد تاکسول با استفاده از کسر حاصل از نسبت AUC تاکسول به AUC سینامیل استات و غلظت هر محلول رسم شد. معادله خطی این منحنی به صورت $y = 0.117x - 1.596$ با ضریب همبستگی ۹۹/۹ درصد محاسبه شد. نمودار شماره ۱ منحنی استاندارد تاکسول را نشان می‌دهد.

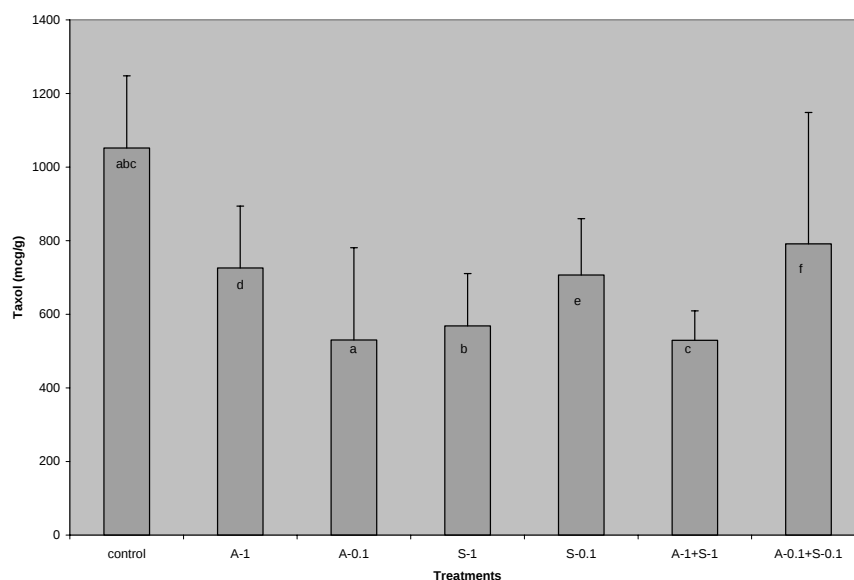


نمودار شماره ۱- منحنی استاندارد تاکسول





شکل شماره ۲- کروماتوگرام آنالیز عصاره‌های گیاهی توسط دستگاه HPLC، پیک مربوط به استاندارد داخلی در دقیقه ۹/۲ و پیک تاکسول نیز در دقیقه ۱۵/۲ ظاهر شده است.



نمودار شماره ۲- تأثیر تزریق نیترات نقره (A)، اسید سالیسیلیک (S) و مخلوط این دو (A+S) بر میزان تولید تاکسول در گیاه سرخدار. بررسی آماری نتایج فوق بر اساس ANOVA با انجام تست Tucky در سطح $p < 0.01$ با انجام سه تکرار می‌باشد. حروف مشابه معنی‌دار بودن اختلافات را نشان می‌دهد.

سالیسیلیک نیز، تزریق غلظت ۱ گرم در لیتر سبب کاهش معنی‌دار در تولید تاکسول شده است. از طرفی میانگین مقدار تاکسول در تزریق محلول مخلوط نیترات نقره + سالیسیلیک اسید در غلظت ۱ گرم در لیتر با کنترل اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهد.

بررسی آماری نتایج نشان می‌دهد که تزریق نیترات نقره و یا اسید سالیسیلیک و یا مخلوط آنها فقط در یک غلظت سبب کاهش معنی‌دار در تولید تاکسول در گیاه *T. baccata* نسبت به کنترل شده است. مقایسه میانگین مقدار تاکسول در تزریق نیترات نقره ۰/۱ گرم در لیتر و نیترات نقره ۱ گرم در لیتر تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد. در مورد محلول‌های اسید



بحث و نتیجه‌گیری

بررسی اثر تزریق دو محرک نیترات نقره و سالیسیلیک اسید به گیاه *T. baccata*، نشان می‌دهد که نیترات نقره و سالیسیلیک اسید نه تنها باعث افزایش تولید تاکسول در گیاه نشد بلکه در مواردی سبب کاهش میزان تولید تاکسول در گیاه شده است. در محیط کشت سلولی بر خلاف نتایج به دست آمده در این تحقیق، نیترات نقره و سالیسیلیک اسید با اعمال اثرات تحریکی، سبب افزایش تولید تاکسول شده‌اند [۶]. انتظار بود که این مواد در گیاه نیز به صورت مستقیم و غیرمستقیم بر آنزیم‌های متفاوتی که در مسیر سنتز تاکسول دخالت دارند اثر گذاشته و با فعال‌تر کردن این آنزیم‌ها، تولید تاکسول را در گیاه همانند محیط کشت سلولی گیاه افزایش دهند. از آنجا که محیط کشت با محیط طبیعی گیاه بسیار متفاوت بوده و عوامل و فاکتورهای مثبت و منفی که بر محیط گیاه تأثیر می‌گذارند، شاید این تفاوت قابل توجه باشد.

نمودار شماره ۲ نشان می‌دهد که استفاده از محلول نیترات نقره با غلظت ۱ گرم بر لیتر و محلول اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۱ گرم بر لیتر و همچنین مخلوط نیترات نقره با غلظت ۱ گرم بر لیتر + اسید سالیسیلیک با غلظت ۱ گرم بر لیتر در مقایسه با کنترل باعث کاهش معنی‌داری در میزان تولید تاکسول شدند و در دیگر تیمارها استفاده از یک محرک و یا استفاده همزمان از دو محرک تفاوت معنی‌داری را در میزان تولید تاکسول ایجاد نکرد. در حالی که در مطالعات انجام شده روی کشت سلولی سلول‌های سرخدار، مخلوط نیترات نقره + سالیسیلیک اسید و نیز مخلوط سیترات آمونیوم + سالیسیلیک اسید، نسبت به استفاده از این محرک‌ها به تنهایی، اثرات تحریکی سینرژیستی از خود نشان دادند. چنانچه استفاده از مخلوط نیترات نقره + سالیسیلیک، سبب افزایش ۱۵۰ درصد در تولید تاکسول شد که نسبت به جمع اثر هر یک از این مواد به تنهایی بیشتر بوده است [۱۹، ۶]. نتایج مذکور حاکی از این است که مخلوط محرک‌های مورد استفاده که در محیط کشت سلولی افزایش سینرژیستی تولید تاکسول را به همراه داشتند،



در محیط گیاه نه تنها اثر سینرژیستی از خود نشان نمی‌دهند بلکه تأثیر آنها وابسته به غلظت می‌باشد.

در بررسی تأثیر غلظت محرک‌های مورد مطالعه شاید بتوان گفت که بین تیمار محلول‌های نیترات نقره ۰/۱ گرم در لیتر و ۱ گرم در لیتر و بین تیمار محلول‌های اسید سالیسیک ۰/۱ گرم در لیتر و ۱ گرم در لیتر تفاوت معنی‌دار ولی معکوس در میانگین مقدار تاکسول وجود دارد. انتظار می‌رفت که نیترات نقره ۱ گرم در لیتر میزان تولید تاکسول را بیشتر از نیترات نقره ۰/۱ گرم در لیتر کاهش دهد که به نظر می‌رسد اثرات تحریکی احتمالی در مورد نیترات نقره ۱ گرم در لیتر مانع از کاهش بیشتر میزان تاکسول در گیاه شده است. گزارش شده است که نیترات نقره با سه غلظت ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر به محیط کشت اضافه شد که در این بین غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش تولید تاکسول نسبت به دیگر غلظت‌ها شد. سیترات آمونیوم با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر بیشترین افزایش در تولید تاکسول را نسبت به غلظت‌های پایین‌تر و بالاتر نشان داده است و سالیسیلیک اسید نیز در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر، تاکسول را به میزان بالاتری نسبت به دیگر غلظت‌های کشت سلولی گیاه تولید کرده است. نتیجه گرفته شده که کاهش تولید تاکسول در غلظت‌های بالاتر از غلظت مناسب ممکن است که به دلیل ایجاد سمیت برای سلول‌های محیط کشت باشد [۶].

در مطالعات انجام شده روی گیاه *Cydonia oblonga* Mill که به تأثیر سولفات آهن در دو ملح فرو و فریک بر کاهش کلروز ناشی از فقر آهن به روش تزریق مستقیم به گیاه، پرداخته است، سولفات آهن فرو و فریک در دو غلظت ۰/۱ و ۱ گرم در لیتر بیشترین افزایش میزان کلروفیل را نسبت به غلظت‌های بالاتر و پایین‌تر نشان دادند [۲].

نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان می‌دهد که تزریق مستقیم محلول‌های نیترات نقره، سالیسیلیک اسید و مخلوط آنها به گیاه *T. baccata*، در غلظت‌های به کار رفته، با ایجاد اثرات متقابل منفی بر بافت گیاه، سبب کاهش تولید تاکسول در

برخوردارند. زیرا اثر هر یک از مواد با افزایش غلظت در محیط کشت متفاوت می‌باشد که این امر شاید به دلیل اثر سمی برخی ترکیبات باشد. گزارش شده است که نیترات نقره می‌تواند در گیاه ایجاد مسمومیت نماید [۲۱]. به طور کلی به نظر می‌رسد غلظت محرک‌ها مورد استفاده در محیط کشت سلولی گیاه سرخدار در مقایسه با گیاه اثرات متفاوتی از خود نشان می‌دهند. درک چگونگی این تأثیرات نیازمند مطالعات بیشتری است.

تشکر و قدردانی

از معاونت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که هزینه این تحقیق را تأمین نموده‌اند و از دانشکده داروسازی تاورن‌تو کانادا برای هدیه تاکسول و از جهاد کشاورزی استان گلستان که امکان دسترسی به گیاه را فراهم نموده‌اند تشکر و قدردانی می‌شود.

گیاه شده‌اند. لذا فرضیه ما مبنی بر تأثیر مثبت این مواد بر آنزیم‌های مسیر بیوسنتز تاکسول و افزایش سنتز تاکسول در گیاه رد می‌شود. با این وجود احتمال دارد که غلظت‌های پایین‌تر این محرک‌ها بتوانند اثرات تحریکی موردنظر را ایجاد نمایند. از این رو بررسی غلظت‌های پایین‌تر یا نمک‌هایی که سمیت کمتری در گیاه ایجاد می‌کنند شاید راه‌گشایی در افزایش تولید تاکسول در این گیاه کند رشد باشد. از سوی دیگر غنی‌سازی خاک منطقه رشد گیاه، با کودهای حاوی محرک‌های سنتز تاکسول نیز از جمله راه کارهای عملی در این زمینه به شمار می‌رود. در مطالعه دیگری اثر تحریکی آراشیدونیک اسید بر سنتز تاکسول در محیط کشت مورد مطالعه قرار گرفت، اثر تحریکی آراشیدونیک اسید بر سنتز تاکسول به اثبات رسید ولی اثر این محرک بر تولید باکاتین III نفی شده است [۷].

با توجه به نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد که نوع و غلظت محرک‌های به کار گرفته شده از اهمیت زیادی

منابع

1. Goodman J, Walsh V. The Story of Taxol, Cambridge: Cambridge University Press; 2001, pp: 1 - 2.
2. Earle CJ. *Taxus baccata* description. *Sci.* 2004; 306: 10 - 11.
3. Jennewein S, Croteau R. Taxol: Biosynthesis molecular genesis and biotechnological applications. *Appl. Microbio. Biotech.* 2001; 57: 13 - 9.
4. Guo BH, Kai GY, Jin HB, Tang KX. Review of taxol synthesis. *Afri. J. Biotech.* 2006; 5: 15 - 20.
5. Yu LJ, Lan WS, Qin WM, Xu HB. Effect of salicylic acid on fungal elicitor - induced membrane - lipid peroxidation and taxol production in cell suspension cultures of *Taxus chinensis*. *Proc. Biochem.* 2001; 37: 477 - 82.
6. Yuan YJ, Wei ZJ, Miao ZQ, Wu JC. Acting paths of elicitors on taxol biosynthesis pathway and their synergistic effect. *Biochem. Eng. J.* 2002; 10: 77 - 83.
7. Srinivasan V, Ciddi V, Bringi V, Shuler ML. Metabolic inhibitors, elicitors and precursors as tools for probing yield limitation in taxol production by *Taxus chinensis* cell culture. *Biotech. Prog.* 1996; 12: 457 - 65.
8. Huang YF, Lan WZ, Chen C, Yu LJ. The role of lipoxigenase in elicitor - induced taxol production in *Taxus chinensis* cell culture. *Proc. Biochem.* 2005; 40: 2793 - 7.
9. Wani MC, Tayler HL, Wall ME. Plant antitumor agent VI: the isolation and structure of taxol, a novel antilukemic and antitumor agent



- from *Taxus brevifolia*. *J. Am. Chem. Soc.* 1971; 93: 2325 - 7.
10. Pegg KG. Tree injection methodology, *Australas Plant Path.* 1990; 19 (4): 142 - 3.
11. Sanchez-Zamora MA, Fernandez-Escobar R. Uptake and distribution of trunk injections in conifers. *J. Arboriculture.* 2004; 30: 73 - 9.
12. Kirkham DS. The significance of polyphenolic metabolites of apple and pear in the host relations of *Venturia inaequalis* and *Venturia pirina*. *J. Gen. Microbiol.* 1957; 17: 491 - 504.
13. Shi QW, Oritani T, Sugiyama T, Yamada T. Two novel pseudoalkaloid taxanes from the Chinese yew, *Taxus chinensis* var. *mairei*. *Phytochem.* 1999; 52: 1571 - 5.
14. Sosulski K, Sosulski FW, Coxworth E. Carbohydrate's hydrolysis of canola to enhance oil extraction with hexane. *J. Am. Oil Chem.* 1988; 65: 357 - 61.
15. Shinozaki Y, Fukamiya N, Fukushima M, Okano M, Nehira T, Dantaxusins C. Two novel taxoids form *Taxus yunnanensis*. *J. Nat. Prod.* 2002; 65: 371 - 4.
16. Shen YC, Chen CY, Hung MC. Taxane diterpenoids from seeds of *Taxus mairei*. *Chem. Pharm. Bull.* 2000; 48: 1347 - 9.
17. Mroczek T, Glowniak K, Hajnos M. Screening for pharmaceutically important taxoids in *Taxus baccata* var. *Aurea* corr. with CC/SPE/HPLC – PDA procedure. *Biochem. Chromat.* 2000; 14: 516 - 29.
18. Murakami R, Shi QW, Oritani T. A taxoid form the needles of the Japanese yew, *Taxus cuspidata*. *Phytochem.* 1999; 52: 1577 - 80.
19. Miao ZQ, Wei ZJ, Yuan YJ. Study on the effect of salicylic acid on taxol biosynthesis. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao.* 2000; 16: 509 - 13 (Chinese).
20. Shareati M. Optimum concentration of Ferro and Ferric on treatment of ferric colors using direct injection to the plant, Msc thesis in Plant Sciences, University of Isfahan, 1989, pp: 25 - 7.
21. Pendius AK, Pendias H. Trace elements in soil and plants. Washington, CRC Press. 2001, pp: 121 - 2.

