بررسی سمیت سلولی عصاره پوست گونه‌های مختلف مرکبات بر رده سلول سرطانی MCF-7

عباسعلی دهپور جویباری*، زهرا حسن پور

گروه زیست شناسی، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران
مسئول مکاتبات: dehpour@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۱/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۴/۳/۲

چکیده

امروزه سرطان به عنوان علت اصلی مرگ در سراسر جهان شناخته شده ودر چند دهه اخیر، پیشرفت‌هایی در علوم پزشکی، مولکولی توانسته نه فقط علل و مکانیسم‌های این بیماری مهلک را شناسایی کند، بلکه در تشخیص زودرس و معالجه آن نیز عملکرد بهتری داشته است. پوست مرکبات مرکز تجمع بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌ها و آنزیم‌های اساسی است. فلاونوئیدها و لیمونن از جمله ترکیبات مهم در پوست مرکبات می‌باشند که نقش مهم آنها در پیشگیری و درمان سرطان امروزه در حال تحقیق و بررسی است. در این تحقیق پس از کشت و تکثیر رده سلول‌های سرطانی MCF-7 به منظور تعیین اثر سمیت سلولی عصاره پوست مرکبات، این سلول‌ها در مجاورت دوزهای مختلف عصاره اتانولی قرار گرفتند که پس از ۷۲ ساعت تست MTT انجام شد. نتایج نشان می‌دهد که عصاره پوست پرتقال، در غلظت‌های ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ($p \leq$ ۰/۰۵) و عصاره پوست لیموترش در غلظت‌های۲/۵ و ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ($p \leq$ ۰/۰۱) رشد سلول‌های MCF-7 را به طور معناداری نسبت به گروه کنترل کاهش داده‌اند. اثرات سمیت سلولی با افزایش غلظت عصاره افزایش یافته و بالاترین درصد مهار رشد در عصاره پوست پرتقال و پوست لیموترش به ترتیب مربوط به غلظت ۷/۵ و ۵ می‌باشد. **بنابراین** استفاده از عصاره پوست مرکبات به عنوان یک ماده موثر در درمان سرطان در علوم پزشکی پیشنهاد می‌گردد.

کلمات کلیدی: سمیت سلولی، عصاره اتانولی، پوست مرکبات، رده سلول سرطانی MCF-7 ، آزمون MTT

مقدمه

سرطان‌ها از بدو پیدایش بشر وجود داشته‌اند وهمچنان درمان سرطان یکی از شایع ترین و طاقت‌فرساترین مسائل طب بالینی است [۱]. گیاهان همواره به عنوان منبع عمده ای از راه حل‌ها برای درمان سرطان از زمان باستان مورد استفاده قرار گرفته‌اند. رادیکال‌های آزاد و سموم مختلف، نقش مهمی در رشد و پیشرفت سرطان از طریق تعامل با DNA دارند. تعداد زیادی از مواد مغذی گیاهی موجود در میوه‌ها، سبزی‌ها، ادویه‌جات و ترشی‌جات با جلوگیری ازایجاد مواد شیمیایی سمی و بهبود فرایندهای سم‌زدایی دربدن به عنوان عوامل قوی پیشگیرانه در برابر سرطان عمل می‌کنند [۱۳]. محصولات ثانویه گیاهان به همراه آنتی اکسیدان‌ها منابع بالقوه‌ای از مواد فعال زیستی می باشند وبه طور کلی محصولات ثانویه تولید شده در گیاهان بر اساس ویژگی‌های بیوسنتزی به سه گروه اصلی ترپن‌ها، ترکیبات فنلی و ترکیبات ازت‌دار تقسیم می‌شوند [۹]. از آنجایی که سرطان به عنوان دومین علت اصلی مرگ و میر در انسان تخمین زده می شود، بنابراین امروزه جستجوی شدیدی در منابع بیولوژیکی مختلف به منظور توسعه یک داروی ضد سرطان جدید برای مبارزه با این بیماری وجود دارد. گیاهان نقش خود رابه عنوان منبع طبیعی مهم درمانی ضد سرطان برای چندین سال به اثبات رسانده‌اند [۱۲]. در تحقیق و بررسی حاضر سعی برآن است تا تاثیر عصاره استخراج شده از پوست گونه‌های مختلف مرکبات مانند پرتقال و لیموترش بر روی سلول-های سرطانی و نرمال انسانی مورد بررسی قرار گرفته و خواص ضد سرطانی و سمیت سلولی آن مورد مطالعه قرار گیرد. پوست پرتقال دارای بافتی چرمی شکل بوده و حاوی غدد روغنی فراوانی است و قرن‌های بسیاری است که از پوست این میوه و دیگر مرکبات در موارد پزشکی استفاده می‌شود. محققان می‌گویند پوست پرتقال مرکز

Archive of SID
www.SID.ir

تجمع بسیاری از خواص از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی و آنزیم‌های اساسی است که در خود پرتقال کمتر وجود دارد. پوست پرتقال دارای ویتامین‌های C، B1، فولیک اسید، فلاونوئید، آلفاکاروتن و بتاکاروتن می‌باشد. همچنین پوست پرتقال محتوی مقدار زیادی اسانس است که دارای لیمونن، دی‌سایکلیک آلدئید، لینالول، دی ال ترپی‌نئول و ... می‌باشد [٦]. در بین ترکیبات نام برده شده فلاونوئیدها و لیمونن از جمله ترکیبات مهم در پوست مرکبات می‌باشند که نقش مهم آنها در پیشگیری و درمان سرطان امروزه در حال تحقیق و بررسی است [٦]. مانتی و همکاران او گزارش داده‌اند که فلاونوئیدهای موجود در مرکبات موجب مهار رشد سلول‌های سرطانی در لوسمی می‌شوند. اثر کامپفرول، که آن هم یک نوع فلاونوئید است، برای مهار رشد خطوط سلول سرطان تخمدان با غلظت ۲۰ و ٤٠ میکرومولار و همچنین رده سلول سرطان پستان نشان داده شده است. چندین مطالعه، فعالیت ضد التهابی قابل توجه کورستین، که نوعی دیگر از فلاونوئیدها است را به علت مهار مستقیم فرآیندهای اولیه در التهاب نشان می‌دهد. آنها گسترش انواع سرطان را با جلوگیری از تقسیم سلول‌های سرطانی، تنظیم نمایان ژن‌ها، جلوگیری از رسیدن خون به تومور و کاهش آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد و التهاب، کندتر کرده و اغلب متوقف می‌کند [۹].

لیمونن نیز مونوترپنی مایع، بی رنگ، ضد اکسایش و نامحلول در آب با فرمول $C_{10}H_{16}$ بوده و در پوست مرکباتی مانند پرتقال، لیموشیرین و نارنگی به عنوان ماده اصلی می‌باشد [٤]. مونوترپن‌ها با روش‌هایی از جمله جلوگیری از انتقال پیام انکوژن‌ها به هسته سلول، ایجاد وقفه در چرخه سلولی و تحریک آنزیم‌های فاز یک و دو کبدی، به پیشگیری و درمان سرطان کمک می‌کنند [٤]. مونوترپن‌ها در پیشگیری و درمان سرطان‌هایی از قبیل سرطان پستان، مری، پروستات، کبد، معده و ریه و بسیاری از سرطان‌های دیگر موثر هستند [۱۰].

هدف از این تحقیق بررسی سمیت سلولی عصاره پوست گونه‌های مختلف مرکبات بر رده سلولی سرطانی MCF-7 توسط آزمون MTT و همچنین مقایسه اثر سایتوتوکسیک عصاره پوست پرتقال و لیمو ترش می‌باشد.

مواد و روش کار

آماده سازی نمونه و تهیه عصاره: ابتدا مرکبات جمع آوری و شستشو شده و پوست خارجی آنها را جدا کرده و به اندازه مربع‌های ۱-۲ سانتی‌متری ریز می‌شود. برای عصاره گیری به روش پرکولاسیون در ظروفی شیشه ای به ازای هر ۲۰ گرم پوست مرکبات ریز شده، ۲۰۰ سی‌سی الکل اتیلیک ۸۰ درصد ریخته می‌شود و ظرف‌ها در محیطی تاریک قرارداده شده و برای تسریع در خروج عصاره هر ۵ ساعت یک بار شیشه ها تکان داده می‌شوند. این سوسپانسیون‌ها پس از ۳-۵ روز از داخل قیف دارای کاغذ صافی عبور داده می‌شود و ۵ شیشه محتوی عصاره گیاه همراه با الکل اتانل بدست می‌آید که با روش روتور کردن، تبخیر الکل توسط بن ماری و یا حمام آب گرم ساختگی انجام می‌گیرد و عصاره به مرور زمان تغلیظ شده و به بدنه و ته ظرف شیشه‌ای می‌چسبد (شکل ۱). عصاره گیاهی مورد نظر توسط ترازوی حساس دیجیتالی توزین گردید و سپس در محیط کشت سلولی (RPMI-1640) رقت‌های ۱۰، ۷/۵، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/٦۳، ۰/۳۱ و ۰/۱٦ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد.

رده سلولی سرطانی پستان (MCF-7) خریداری شده از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران در محیط کشت مایع RPMI1640 که همراه با ۱۰ درصد سرم جنین گاو غیر فعال شده (FBS)، و ۱۰۰U/ml پنی سیلین و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر استرپتومایسین است، در انکوباتور دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و در اتمسفر حاوی ۵ درصد CO_2 و ۹۵ درصد رطوبت در فلاسک‌های استریل کشت داده شد. در این آزمایش به علت نیاز سلول‌ها از محیط-های سرم دار استفاده شد. محلول پنی‌سیلین-استرپتومایسین در دمای ۲۰- درجه نگهداری گردیده و

Archive of SID

www.SID.ir

به نسبت ۱:۱۰۰ به محیط کشت اضافه شد. همچنین ۲۵۰ میلی گرم پودر MTT به نسبت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در PBS حل و با صافی ۰/۲۲ میکرون استریل صاف و در ظرف در پیچ‌دار استریل و با پوشش آلومینیومی در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

فرآوری خون (جدا کردن سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی): ابتدا یک لوله فالکون تک استریل ۱۵ سی‌سی و ۲ سی‌سی فایکول برداشته و سپس ۳ سی‌سی از خون محیطی گرفته شده را به آرامی به فایکول درون لوله فالکون اضافه می‌کنیم که در سانتریفیوژ با دور ۱۵۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه بایست لایه ابری شکل متشکل از سلول-های تک هسته‌ای را که بین ۲ لایه سلول های خونی در پایین و پلاسما در بالا تشکیل شده است جدا و به یک لوله فالکون جدید منتقل نماییم. حال از آنجا که فایکول سمی است و بایست شسته شود، با محیط کشت RPMI حجم لوله فالکون را به ۷ رسانده و مجددا در سانتریفیوژ با دور ۱۵۰۰ و به مدت ۷ دقیقه سانتریفیوژ می‌کنیم تا سلول‌ها جدا و ته نشین گردند. بعد از شسته شدن سلول-ها آنها را به تعداد مناسب در محیط کشت RPMI رسوسپانت می کنیم.

بررسی سمیت سلولی عصاره اتانولی با استفاده از آزمون MTT: رده‌های سلولی مختلف در محیط کشت RPMI-1640 که حاوی پنی‌سیلین (IU/ML100)، استرپتومایسین (IU/MI100)، گلوتامین (mmo12) و ۱۰٪ سرم جنین گاو (FBS) بود در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و در اتمسفر حاوی ۵٪ CO_2 انکوبه شدند. سلول‌ها در فلاسک‌های T شکل ۲۷۵سانتی‌متری در ۱۵ میلی لیتر محیط و با اینوکلوم اولیه ۱۰٦ × ۲-۱ سلول، شروع به رشد کردند. بعد از گذشت سه روز و پوشیده شدن بستر فلاسک از سلول، لایه سلول چسبنده به کف فلاسک به روش آنزیمی و با استفاده از تریپسین- ورسن جدا شده و پس از انتقال به لوله آزمایش استریل به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۲۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس سلول‌ها در محیط کشت تازه با کمک پیپت پاستور دوباره معلق و از آن سوسپانسیون با استفاده از سمپلر ۸ کاناله ۱۰۰ میکرولیتر درون چاهک‌های پلیت ۹٦ خانه‌ای با کف صاف (ویژه کشت سلولی) ریخته می شد. یک ستون از چاهک‌ها بدون سلول و به عنوان بلانک و فقط حاوی محیط کشت نگه داشته شده و یک ستون دیگر حاوی محیط کشت و سلول های سالم (لنفوسیت و مونوسیت) و ستون‌های دیگر حاوی محیط کشت و سلول‌های رده سلولی در نظر گرفته شد. یکی از این ستون‌ها که حاوی محیط کشت و سلول و فاقد عصاره بودند به عنوان شاهد (کنترل) در نظر گرفته شدند و یک ستون دیگر هم حاوی محیط کشت و سلول و غلظت به کار رفته DMSO (کنترل منفی) بود تا اثر سمیت آن بر روی سلول‌ها بررسی شود. پس رقت‌های مناسب از عصاره مورد نظر تهیه گشته و ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت به صورت ستونی به چاهک‌های پلیت اضافه شد سپس سلول ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه و در اتمسفر ۵٪ CO_2 در انکوباتور قرار داده شدند.

پس از گذشت ۷۲ ساعت به هر چاهک ۲۰ میکرولیتر از محلولMTT ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اضافه شد. پلیت‌ها به مدت ۳ تا ٤ ساعت انکوبه شده و سپس باقیمانده خارج و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه شد تا فورمازان حاصل حل گردد. پس از ۱۰ دقیقه و تکان دادن پلیت‌ها با استفاده از تکان دهنده پلیت، جذب نوری فورمازان در ۵۷۰ نانومتر با استفاده از خوانشگر پلیت خوانده شد. چاهک‌های حاوی سلول و بدون عصاره به عنوان چگالی نوری (OD) شاهد (کنترل) و چگالی نوری چاهک‌های بدون سلول و تنها حاوی محیط RPMI-1640 به همراه سرم جنین گاوی به عنوان Blank در نظر گرفته شد. درصد حیات سلولی با استفاده از این فرمول محاسبه گردید:

$$OD=\frac{OD_{\text{چاهک های تحت تاثیر عصاره}}-OD_{\text{بلانک}}}{OD_{\text{کنترل}}-OD_{\text{بلانک}}}\times ۱۰۰$$

Archive of SID

www.SID.ir

پس از کشت، تکثیر و پاساژ دادن سلول‌های سرطانی MCF-7، این سلول‌ها به همراه سلول‌های سالم که همان سلول های تک هسته‌ای خون محیطی می باشند، با غلظت معین DMSO و غلظت‌های مختلف مورد نظر از عصاره بر اساس توضیحات داده شده، در چاهک‌های مخصوص خود در پلیت ۹۶ خانه کف صاف مخصوص الایزا لود شدند. پس از گذشت ۷۲ ساعت از اثر دادن غلظت‌های مختلف عصاره بر رده سلول‌های سرطانی MCF-7 و اضافه کردن نمک MTT و DMSO پلیت توسط دستگاه الایزا ریدر قرائت گردید.

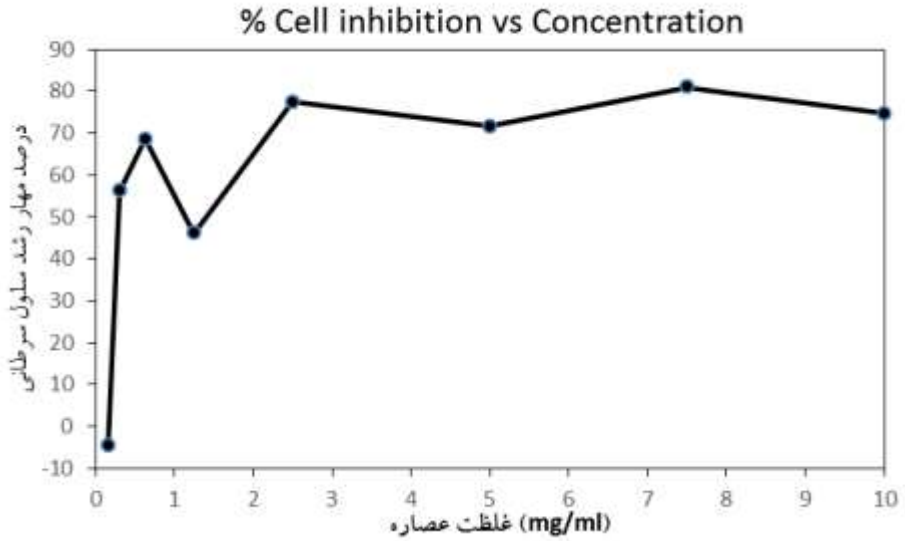
شکل ۱ـ مراحل عصاره گیری از پوست پرتقال: الف. پرکولاسیون، ب. صاف کردن عصاره، ج. تغلیظ عصاره

نتایج

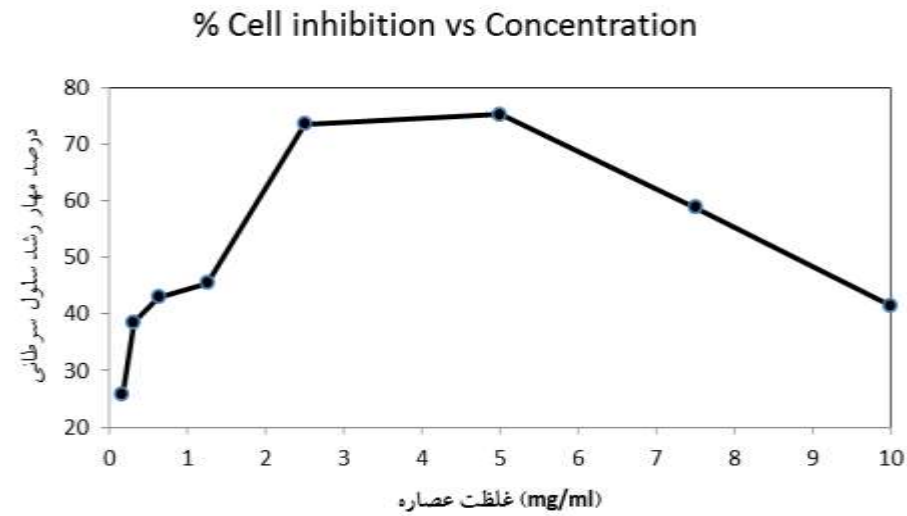
برای بررسی نقش غلظت‌های مختلف از عصاره تهیه شده، اثرات سمیت سلولی غلظت‌های مختلف با کمک روش MTT بر رده سلول‌های سرطانی MCF-7 مورد بررسی قرار گرفت. آنچه از نتایج آزمایش برآورد می‌شود این است که جذب نوری خوانده شده در غلظت‌های ۷/۵ و ۱۰ دارای اختلاف معنی‌دار ($p \leq ۰/۰۵$) با گروه کنترل است. IC50 با کمک روش MTT و بر اساس اثرات مهاری عصاره بر روی رشد سلول‌های سرطانی MCF-7 بدست آمده و بیانگر غلظتی از عصاره است که موجب جلوگیری از رشد سلول‌ها به میزان ۵۰ درصد می‌گردد که برای عصاره پوست پرتقال و لیمو به ترتیب ۱/۲٤ و ۱/۲۸ محاسبه شده است. نتایج حاصل از این آزمایشات نشان می‌دهند که در سلول‌های MCF-7 عصاره پوست پرتقال در غلظت‌های ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ($p \leq ۰,۰۵$) و در عصاره پوست لیموترش در غلظت‌های ۵ و ۲/۵ ($p \leq ۰,۰۱$) رشد سلول‌ها به طور معناداری نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است. اثرات سمیت سلولی در غلظت‌های ۱۰، ۷/۵، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/٦۲۵، ۰/۳۱۲ و ۰/۱۵٦ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب در عصاره پوست پرتقال به میزان ۷۵، ۸۰، ۷۰ ، ۸۰، ٤۵، ۷۰، ۵۸ و صفر درصد و در عصاره پوست لیموترش ٤۰، ٦۰، ۷۷، ۷۵، ٤۵، ٤۲، ٤۰ و ۲۵ درصد است. همانطور که ملاحظه می‌شود بالاترین درصد مهار رشد در عصاره پوست پرتقال مربوط به غلظت ۷/۵ و به میزان ۸۰٪ بوده و در عصاره پوست لیموترش مربوط به غلظت ۵ و به میزان ۷۷٪ می‌باشد (نمودار ۱ و ۲).

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار ۱ـ درصد مهار رشد سلول‌های سرطانی MCF-7 در غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی پوست پرتقال



نمودار۲ـ درصد مهار رشد سلول‌های سرطانی MCF-7 در غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی پوست لیموترش

بحث

مطالعه حاضر و نتایج به دست آمده در آن خواص ضد سرطانی عصاره حاصل از پوست مرکبات را نشان می‌دهد که این اثر با افزایش غلظت عصاره افزایش می‌یابد. بالاترین درصد مهار رشد در عصاره پوست پرتقال مربوط به غلظت ۷/۵ و به میزان ۸۰ درصد بوده و در عصاره پوست لیموترش مربوط به غلظت ۵ و به میزان ۷۷٪ می‌باشد. حداکثر قدرت مهار رشد سلول‌های MCF-7 در عصاره حاصل از پوست پرتقال تقریبا به میزان ۳٪ بیشتر از قدرت مهارکنندگی عصاره حاصل از پوست لیموترش می‌باشد. همچنین عصاره حاصل از پوست مرکبات حتی در غلظت‌های پایین دارای اثر مهارکنندگی بر رشد رده سلول‌های سرطانی می‌باشد. در راستای همین مطالعات پور امیر و همکارانش در سال ۱۳۸۷ به بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست نارنج پرداختند. آن‌ها اثر

www.SID.ir

بازدارنده عصاره نارنج را بر روی اکسیداسیون لیپیدی گوشت خام و پخته ماهی بررسی نمودند و به این نتیجه رسیدند که این عصاره دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی بوده و با افزایش غلظت عصاره، میزان اکسیداسیون لیپیدی کاهش یافته و فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد [۳]. همچنین چراغی و همکارانش در سال ۱۳۸۹ در بررسی اثر ضد دردی و ضد التهابی عصاره پوست پرتقال، آن را با سه دوز ۲۰، ۳۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به موش‌ها تزریق کردند و مشاهده کردند که هر سه دوز به کار برده شده اثر ضددردی و ضدالتهابی داشته و در این میان دوز ۵۰ بیشترین اثر ضددردی (۸۹ درصد) را از خود نشان داد [٤] که نتایج بدست آمده از این تحقیقات نیز افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی حاصل از افزایش غلظت عصاره را تایید می‌کنند. ولدی و همکارانش نیز در سال ۱۳۸۷ اثر ضد التهابی گیاه شوید را با ۳۲ درصد لیمونن بررسی کردند و آنها نیز در تحقیقاتشان متوجه شدند که اسانس گیاه شوید می‌تواند جایگزینی مناسب برای داروهای ضد التهابی باشد [۷]. منجمی و همکارانش در تحقیقی به بررسی اثرات سیتوتوکسیک اسانس فرار پوست لیموترش و لیموشیرین پرداختند و اثر سایتوتوکسیک بیشتر در عصاره لیموترش را به اثبات رساندند [۵]. پاشا زانوسی و همکارانش نیز در سال ۱۳۸۹ به شناسایی و اندازه‌گیری ترکیبات موجود در اسانس برگ لیموترش و بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و آنتی باکتریایی آن پرداختند و به این نتیجه رسیدند که برگ لیموترش نیز مانند پوست لیموترش دارای لیمونن (۱٦/۸ درصد) می‌باشد و همچنین اثرات آنتی باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی برگ لیموترش را به اثبات رسانده‌اند [۲]. همچنین اثر بازدارندگی و درمانی مونوترپن‌ها بر سرطان نیز ثابت شده است [۱۱].

نتیجه‌گیری

بنابرنتایج حاصل از آزمایشات، عصاره مرکبات و برای نمونه عصاره پوست پرتقال و لیمو ترش دارای اثر مهاری در رشد سلول‌های سرطانی رحم می‌باشند که این اثرضد سرطانی حاصل از فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات مهمی همچون لیمونن، در پوست مرکبات است. همچنین نتایج نشان می دهند که با افزایش میزان قابل قبولی از غلظت عصاره اثر مهاری آنها افزایش می‌یابد و عصاره حاصل از پوست مرکبات حتی در غلظت‌های پایین دارای اثر مهارکنندگی بر رشد رده سلول‌های سرطانی می‌باشد. این مطالعه یکی از مطالعات مقدماتی انجام گرفته در زمینه خواص ضدسرطانی عصاره پوست مرکبات می‌باشد و نیازمند بررسی‌های مفصل تر در تحقیقات بعدی می باشد. جداسازی و خالص‌سازی جزء موثر عصاره و بررسی ساختار آن و بررسی فعالیت ضد سرطانی جزء موثر این عصاره در گیاهان دیگر و در نهایت استفاده از آن در صنایع دارویی و بهداشتی در پژوهش‌های آتی پیشنهاد می‌شود.

منابع

۱- پارسا، ناصر، ۱۳۹۱، اختلالات ژنتیکی سرطان ها در انسان، ویژه نامه دوازدهمین کنگره ژنتیک ایران، تهران، ایران.

۲- پاشا زانوسی، م.، رئیسی، م. میرکاظمی مقدم، ص. ۱۳۸۹. شناسایی و اندازه‌گیری ترکیبات موجود در اسانس برگ لیموترش توسط طیف سنج GC-MS و بررسی فعالیت آنتی-باکتریایی و آنتی‌اکسیدانتی آن. پنجمین همایش ملی ایده‌های نو در کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان. ۲۸-۲۷ بهمن ,۸۹

۳- پور امیر، م.، گلی، ز. ۱۳۸۷. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره پوست نارنج و اثر بازدارندگی آن بر اکسیداسیون لیپیدی در مدل بیولوژیک. هجدهمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی، مشهد.

٤- چراغی، ج.، ولدی، ع. ۱۳۸۹. بررسی اثر ضد دردی و ضد التهابی ترکیب لیمونن موجود در گیاهان دارویی، فصلنامه علمی پژوهشی گیاهان دارویی و معطر ایران، شماره ۳، صفحه ٤۱۵,-٤۲۲

۵- منجمی، ر. عریانو ش. جعفریان، ع. قنادی، ع. حائری، ع، ۱۳۸٤، بررسی اثرات سیتوتوکسیک اسانس فرار لیمو ترش و لیموشیرین، اولین همایش ملی توسعه پایدار گیاهان دارویی.

Archive of SID
www.SID.ir

٦- میرحیدری، حسین، ۱۳۷۷، معارف گیاهی، چاپ سوم، تهران، دفتر نشر فرهنگ اسلامی، صفحه ٧٦-٧٢

٧- ولـدی، ع. ۱۳۸۷. بررسـی اثـرات ضـد التهـابی گیـاه *Anethum graveolens* L. یازدهمین همایش ملی علـوم دارویی ایران. کرمان، ۳۱-۲۸ مرداد: ۸۵-۸٤.

8- Crowell P.L. (1999), Prevention and therapy of cancer by dietary monoterpenes. *Journal* of *Nutrition*, 129(3): 775-778.

9- Ghasemzadeh A., Ghasemzadeh N. (2011), Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human, *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(31): 6697- 6703.

10- Jidong S. (2007), D-Limonene: Safety and Clinical Applications, *Alternative Medicine Review*, 12(3): 259-264.

11- Michael N.G. (1997), Cancer Chemoprevention and Therapy by Monoterpenes, *Environmental Health Perspectives*, 105: 997-999.

12- Nirmala M.J, Samundeeswari A., Deepa S.P. (2011), Natural plant resources in anti-cancer therapy-A review. *Research in Plant Biology*, 1(3): 1-14.

13- Emami S.A., Tayarani N.Z. (2011), Cytotoxic Plants: Potential Uses in Prevention and Treatment of Cancer. In: Öner Özdemir (ed.) Current Cancer Treatment –Novel beyond Conventional Approaches, *InTech Croatia*, 651-692.

Archive of SID

www.SID.ir