



## فصل نامه داروهای گیاهی

journal homepage: [www.jhd.iaushk.ac.ir](http://www.jhd.iaushk.ac.ir)



# مقایسه اثر عصاره زنجبیل و آسپیرین بر بیان ژن COX-2 در سلول های دودمان سرطان کولون HT-29

آرزو حقیقی<sup>۱</sup>، نوشا ضیا جهرمی<sup>۲\*</sup>

۱. کارشناس ارشد بیوشیمی، دانشکده ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد؛

۲. استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد؛

\*مسئول مکاتبات (E-mail: [Noosha.59@yahoo.com](mailto:Noosha.59@yahoo.com))

### چکیده

### شناسه مقاله

مقدمه و هدف: سرطان کولون پس از سرطان ریه دومین علل مرگ و میر ناشی از سرطان در جهان می باشد. عوامل محیطی و ژنتیکی نقش مهمی در بروز این سرطان ایفا می کنند. از عوامل مهم در ایجاد این سرطان التهابات طولانی مدت کولون می باشد. زنجبیل به دلیل داشتن ترکیب ۶-جینجرول دارای خاصیت ضد التهابی است که در پیشگیری از سرطان کولون نقش دارد. در سرطان کولون التهاب، از علائم اولیه آن محسوب می شود. در این مطالعه اثر عصاره زنجبیل بر بیان ژن COX-2 در سلول های دودمان سرطان کولون HT-29 بررسی شد.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۰۲/۱۰

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۷/۱۰

نوع مقاله: علمی - پژوهشی

موضوع: فیتوشیمی

روش تحقیق: در این مطالعه، سلول های دودمان سرطان کولون HT-29 پس از کشت، در پاساژ سوم تریپسینه شد و تعداد ۵۰۰۰ سلول در چاهک های پلیت ۹۶ خانه کشت داده شد. سپس سلول ها با عصاره زنجبیل در ۴ غلظت ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر تیمار داده و پلیت ها به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، ۵ درصد CO<sub>2</sub> انکوبه گردید. به منظور بررسی تاثیر عصاره زنجبیل بر سلول ها، تست MTT انجام و دانسیته نوری پلیت ها توسط دستگاه الایزا در طول موج ۵۷۰ نانومتر قرائت شد. RNA توتال سلولی استخراج و توسط روش RT-PCR بیان ژن COX-2 بررسی گردید.

✓ کلید واژگان:

✓ HT-29

✓ زنجبیل

✓ سرطان کولون

✓ COX-2

✓ آسپیرین

نتایج و بحث: عصاره زنجبیل با غلظت ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر بیشترین IC<sub>50</sub> را نشان داد. بیان ژن COX-2 با روش RT-PCR نشان داد، عصاره زنجبیل با غلظت ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر موجب کاهش بیان ژن COX-2 در مقایسه با داروی آسپیرین به عنوان یک داروی ضد التهاب در سلول های دودمان HT-29 سرطان کولون می شود. با توجه به اهمیت کاهش التهاب در بیماران مبتلا به سرطان کولون یافته ها نشان داد که استفاده از عصاره زنجبیل می تواند نقش مهمی در کاهش التهاب و کاهش بیان ژن COX-2 که نقش مهمی در سنتز پروستاگلاندین ها و ایجاد التهاب دارد داشته باشد.

توصیه کاربردی/صنعتی: در این بررسی نقش عصاره زنجبیل و آسپیرین که از داروهای ضد التهاب موثر است قابل مقایسه بوده است. لذا به نظر می رسد با تحقیقات بیشتر در آینده، بتوان از آن به عنوان یک راهکار جدید درمانی بهره برد.

## ۱. مقدمه

طی سال‌های اخیر گیاه زنجبیل به عنوان یک گیاه دارویی مورد توجه گرفته است. زنجبیل به عنوان دارو، ادویه و خوراک لذیذ در دنیا استفاده می‌گردد. این گیاه به دلیل داشتن ترکیب ۶-جینجرول باعث کاهش التهابات و در نتیجه سرکوب سلول‌های سرطانی می‌شود و افراد را در برابر ابتلا به سرطان کولون و مرگ و میر ناشی از آن محافظت می‌کند (Geong, 2010; Brenner, 2014). لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر عصاره زنجبیل بر کاهش بیان ژن COX-2 در سلول‌های دودمان سرطان کولون HT-29 می‌باشد تا از نتایج این تحقیق بتوان در بحث درمان و پیشگیری سرطان روده بزرگ استفاده نمود.

## ۲. مواد و روش‌ها

### ۲-۱. کشت سلول‌های رده HT-29 سرطان کولون

رده سلولی سرطان کولون HT-29 از انستیتو پاستور تهران (Cat. No. 30-2020) تهیه شد. سلول‌ها در محیط کشت RPMI 1640 حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی و ۱ درصد آنتی بیوتیک‌های پنی سیلین و استرپتو مایسین تا رسیدن به فاز لگاریتمی در انکوباتور CO<sub>2</sub> حاوی ۹۵ درصد هوا، ۵ درصد دی اکسید کربن، رطوبت نسبی ۹۵ درصد و درجه حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد، انکوبه شدند.

### ۲-۲. کشت سلول‌ها در پلیت ۹۶ خانه

سلول‌ها در پاساژ سوم تریپسینه شده، سپس تعداد ۵۰۰۰ سلول در پلیت‌های ۹۶ خانه کشت داده شد.

### ۲-۳. تیمار سلول‌ها با عصاره زنجبیل

عصاره زنجبیل به صورت زنجبیل حاوی، ماده موثره جینجرول از شرکت Sigma با Cat. No. 17H2604 خریداری شد و در ۴ غلظت ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر تهیه و مقدار ۱۰ میکرولیتر از آن به چاهک‌های هر پلیت اضافه شده و پلیت‌ها به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوبه شد.

### ۲-۴. تست رنگ سنجی MTT

MTT (۴ و ۵ دی متیل تiazول ۲ ایل) یک آزمون رنگ سنجی است که در آن رنگ زرد تترازولیوم زرد توسط آنزیم‌های

سرطان کولون پس از سرطان ریه دومین علل مرگ و میر ناشی از سرطان در جهان (Leong, 1998) و پس از سرطان معده و مری، سومین سرطان شایع گوارشی در ایران است (Mohebbi, 2008). سرطان کولون بیماری است که در آن، سلول‌های بدخیم در بافت روده بزرگ ایجاد می‌شوند. عوامل متعددی در ایجاد و گسترش سرطان روده بزرگ دخالت دارد نظیر سن، رژیم غذایی، سابقه خانوادگی افراد، سیگار کشیدن، کم تحرکی، مصرف الکل و چاقی (Garland, 1980). در این بیماری التهاب، نقش مهمی داشته که علت ایجاد آن تولید مقادیر زیاد آنزیم سیکلواکسیژناز-۲ و فعال شدن مسیر تولید پروستاگلاندین‌ها می‌باشد. این التهابات در ایجاد پولیپ‌های روده ای نقش مهمی دارند. در صورتیکه این پولیپ‌ها به موقع برداشته نشوند، تبدیل به تومورهای سرطانی بدخیم می‌شوند (Brenner, 2014). در کنار همه این عوامل از نقش فاکتورهای ژنتیکی در گسترش و ایجاد التهاب و در نتیجه بدخیمی‌های روده بزرگ نمی‌توان چشم پوشی کرد. یکی از این فاکتورها ژن COX-2 (سیکلو اکسیژناز-۲) می‌باشد. آنزیم سیکلواکسیژناز توسط ژن COX-2 تولید می‌شود. در پستانداران دو ایزوفرم از این آنزیم، به نام‌های COX-1 و COX-2 (سیکلو اکسیژناز ۱ و ۲) با ژن‌های مستقل و الگوی بیان متفاوت وجود دارد. COX-2 به عنوان جزئی از واکنش‌های التهابی در پاسخ به تحریکات خارج سلولی سریع‌القاء می‌گردد و میزان آن در اغلب بافت‌های طبیعی غیر قابل‌سنجش می‌باشد (Kujubut, 1991; Xie, 1991).

مطالعات بالینی و اپیدمیولوژیکی حاکی از کاهش خطر ایجاد تومورهای بدخیم کولون در اثر مصرف منظم داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی مثل آسپرین و سالیسیداک می‌باشند که از طریق مهار سنتز پروستاگلاندین‌ها باعث کاهش التهاب در این بیماری می‌شود. بنابراین مهار ژن COX-2 به عنوان یک استراتژی امیدبخش و مؤثر برای درمان و جلوگیری از سرطان کولون مورد توجه قرار گرفته است (Hla, 1999). افرادی که به طور منظم از آسپیرین یا دیگر داروهای ضدالتهابی غیر استروئیدی استفاده می‌کنند ۴۰ تا ۵۰ درصد کمتر به سرطان کولون مبتلا می‌شوند. همچنین مطالعاتی که روی مدل‌های حیوانی انجام شده نشان می‌دهد که مصرف داروهای ضدالتهابی غیر استروئیدی منجر به کاهش قابل توجهی در تعداد تومورها می‌شود.

محصولات PCR روی ژل ۱,۵ درصد آگارز به مدت ۲ ساعت قرار داده شد. سپس نمونه ها با اتیدیوم برماید رنگ آمیزی گردید. محصول تکثیر ژن COX-2 باند ۲۶۷ bp می باشد. از باندهای به دست آمده توسط دستگاه ترانس لومیناتور عکس برداری شد.

### ۳. نتایج و بحث

نتایج تست MTT برای سلول های HT-29 سرطان کولون در غلظت های ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره زنجبیل در زمان ۷۲ ساعت در جدول ۴ نشان داده شده است.

جدول ۱. توالی پرایمرها GAPDH و COX-2

Forward COX-2	5'-GTCTGATGATGTATGCCACAATCTG-3'
Revers COX-2	5'-GATGCCAGTGATAGAGGTGTTAAA-3'
Forward GAPDH	5'-GAAGGTGAAGGTCGGAGTC-3'
Revers GAPDH	3'- GAAGATGGTGATGGGATTTC- 5'

جدول ۲. واکنشگر های لازم جهت انجام RT-PCR

حجم	مواد
۲ میکرو لیتر	cDNA (۱/۱۰۰۰)
۵ میکرو لیتر	PCR buffer 10X
۱ میکرو لیتر	dNTP 10Mm
۳ میکرو لیتر	Reverse and Forward COX-2 Primer
۰/۵ میکرو لیتر	Tag DNA Polymerase
۳ میکرو لیتر	25 mM MgCl <sub>2</sub>
۳۵/۵ میکرو لیتر	Water nuclease free
۵۰ میکرو لیتر	Total volume

نتیجه تست MTT نشان داد که در عصاره زنجبیل با غلظت ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر نسبت به غلظت ۱۰، ۳۰ و ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر بیشترین اثر مهار کنندگی را بر سلول های HT-29 داشته است.

میتوکندریایی به رنگ ارغوانی فورمازان تغییر می یابد. تعداد نسبی سلول های زنده ارتباط مستقیم با میزان جذب نور دارد. به طور خلاصه تعداد ۵۰۰۰ سلول در چاهک های پلیت ۹۶ خانه الیزا ریخته شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون پلیت ها، در دمای ۳۷ درجه هر چاهک با عصاره زنجبیل در ۴ غلظت ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر تیمار شده و پس از گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، ۰/۳ میلی گرم بر میلی لیتر ماده MTT به سلول ها اضافه شد و پلیت ها به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. سپس محلول DMSO (دی متیل سولفوکسید) به چاهک ها افزوده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد.

جذب نوری پلیت ها توسط الیزاریدر در طول موج ۵۷۰ نانومتر متر بررسی شد و نتایج به صورت IC50 بیان شد.

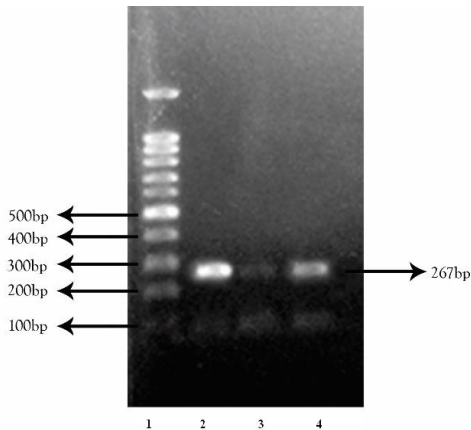
### ۲-۵. استخراج RNA و سنتز cDNA از سلول های تیمار شده با عصاره زنجبیل

تعداد ۱۰۰۰۰۰ سلول HT-29 با مقدار IC50 عصاره زنجبیل جمع آوری گردید و جهت استخراج RNA از کیت Tripurer کمپانی Roch استفاده شد. به سلول ها ۱ میلی لیتر محلول Tripurer اضافه و به مدت ۵ دقیقه در دمای محیط انکوبه شد. سپس ۲۰۰ میکرو لیتر محلول کلروفرم به سلول ها اضافه شده و پس از مخلوط کردن سلول ها با اتانول ویال با دور ۷۵۰۰ در دقیقه سانتریفوژ شد. نهایتا پس از اینکه سلول ها با ایزوپروپانل انکوبه شدند به رسوب RNA، ۳۰ میکرو لیتر آب مقطر استریل حاوی DEPC (دی اتیل پیرو کربنات) افزوده و ویال ها در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. جهت بررسی کیفیت RNA استخراج شده، جذب نوری RNA توسط دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۲۸۰ بررسی شد. برای ساخت cDNA از کیت Thermo SCIENTIFIC استفاده شد. به طور خلاصه ۱ میکروگرم از RNA با ۳ میکرو لیتر پرایمر Reverse (پیشرو) و Forward (پسرو) مخلوط شد. مخلوط حاصل در دمای ۴۲ درجه به مدت ۶۰ دقیقه انکوبه شد و سپس به سرعت روی یخ قرار گرفت.

### ۲-۶. آزمون RT-PCR بیان ژن COX-2

پرایمرهای ژن COX-2 با استفاده از نرم افزار Gen runner طراحی و ساخته شدند.

گروه آزمون و کنترل در ساعات مختلف نشان داد که بهترین نتیجه در ۷۲ ساعت پس از تیمار سلول‌ها به دست می‌آید (شکل ۲).



شکل ۲. چاهک شماره ۱: مارکر. چاهک شماره ۲: کنترل منفی. چاهک شماره ۳: رده سلولی HT-29 تیمار شده با عصاره آسپیرین. چاهک شماره ۴: رده سلولی HT-29 تیمار شده با عصاره زنجبیل.

مطالعات محققین نشان داده است که زنجبیل به دلیل داشتن ترکیب ۶-جینجرول دارای خاصیت ضدالتهابی است که در پیشگیری از سرطان کولون نقش دارد.

مطالعاتی که در سال ۱۹۹۳ و ۱۹۹۷ انجام شد نشان دهنده افزایش التهاب در سلول‌های روده افراد مبتلا به سرطان کولون بود (Giardiello, 1993; Shiff, 1997).

مطالعات ژنتیکی و فارماکولوژیکی Carlson و همکارانش (۲۰۰۳) نشان داد که در سرطان کولون بیان پروتئین pGf2 و COX-2 افزایش می‌یابد که خود باعث فعال شدن چند مسیر سیگنالینگ سلول و پیشرفت بیماری می‌شود (Carlson, 2003). Yang و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعات خود اثر مصرف عصاره زنجبیل را به مدت ۲۸ روز بر روی سلول‌های سرطانی کولون بررسی کردند که مطابق با نتایج Kim و همکاران (۲۰۱۱) است (Yang, 2011).

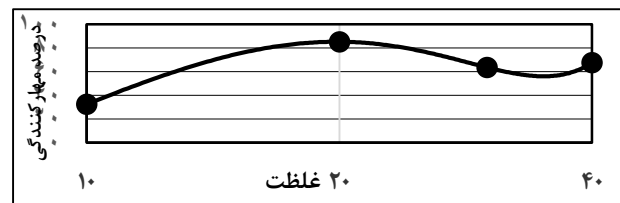
با توجه به یافته‌های فوق و اهمیت افزایش بیان ژن COX-2 در التهابات، این فرضیه که احتمالاً التهابات در کولون در نتیجه افزایش بیان این ژن به وجود می‌آید تایید می‌شود و این ژن برای کنترل پیشرفت بیماری ضرورت دارد.

جدول ۳. شرایط دمایی لازم برای انجام RT\_PCR (پرایمر COX-2).

۱ سیکل	۹۴ درجه سانتی-گراد	۳ دقیقه	PCR initial denaturation step
۳۵ سیکل	۹۴ درجه سانتی-گراد	۳۰ ثانیه	Denaturation
	۵۹ درجه سانتی-گراد	۳۰ ثانیه	Annealing GAPDH Primer
	۷۲ درجه سانتی-گراد	۴۵ ثانیه	Extension
۱ سیکل	۷۲ درجه سانتی-گراد	۵ دقیقه	Extension

جدول ۴. ارزیابی MTT بر غلظت‌های مختلف عصاره زنجبیل (۷۲ ساعت)

غلظت عصاره زنجبیل (میلی گرم بر میلی لیتر)	۱۰	۲۰	۳۰	۴۰
OD میانگین	۰/۱۹۲	۰/۰۵	۰/۱۶۰	۰/۱۵۹



شکل ۱. غلظت عصاره زنجبیل (میلی گرم بر میلی لیتر) در آزمون رنگ سنجی MTT.

نتایج به دست آمده نشان داد عصاره زنجبیل با غلظت ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر، بیشترین مقدار IC50 را داشته و باعث کاهش بیان ژن COX-2 در سلول‌های HT-29 سرطان کولون می‌شود. در مقابل در سلول‌های HT-29 که با عصاره زنجبیل تیمار نشده بودند کاهش سطح بیان ژن COX-2 مشاهده نشد. بیان ژن COX-2 در سلول‌های

#### ۴. نتیجه گیری

با توجه به نتایج حاصل از پژوهش انجام شده که بیانگر اثر ضد التهابی عصاره زنجبیل بر سلول‌های دودمان HT-29 سرطان کولون می باشد و همچنین قیمت مناسب و در دسترس بودن آن، به نظر می‌رسد با تحقیقات بیشتر در آینده، بتوان از آن به عنوان یک راه کار جدید درمانی بهره برد.

#### ۵. منابع

- Berenda P, R. P., Rothenon, A. 2011. Effect of Aspirin on risk of colon cancer, *LANCET*. 11(12): 21-32.
- Brenner K.M., Pox, CP3. 2014. Colorectal cancer. *Lancet*, 383 (9927): 1490-1502.
- Carlson, M.L., Stephen, M. 2003. Regulation of COX-2 transcription in a colon cancer cell line by Pontin52/TIP49a. *Molecular Cancer*, 2(3): 42-45.
- Garland, C.F.1980. Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer?. *Inter national Journal Epidemiol*, 9(7): 227-231.
- Geong S. B., Jungil, H., Fosdick, C. 2010. Cyp 2c9 and uGt A6 Genotypes Modulate the Protective Effect of Gigerole on colon cancer. *Cancer Research*, 6(7): 62-66.
- Giardiolo, F.M., Krush, A. 1993. Treatmnt of colonic and rectal adenomas with sulindac in familial adenomatous polyposis. *New England Journal of Medical*, 328(28): 133-136.
- Hampel, F. W., Martin, E., Arnold, M., Khanduja, K., Kuebler, P, et al. 2005. Screening for the Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer). *New England Journal Medical.*, 352(86) 185-186.
- Hla, B. D., Liu, C.H., Schaefer, H.J., Trifan, O.C. 1999. Cyclooxygenase-1 and-2 isoenzymes. *IYBCB*, 31(45): 551-557.
- Kim A, W. S., Willson, B. 2011. effect of Gingerole on colon cancer incidence and mortality. *Medical Scape*, 13(23): 51-76.
- Kujubut, F. B., Varnum, B.C., Lim, R.W., Herschman, H.R. 1991. TIS10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3t3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue. *The Journal of Biological Chemistry*, 26(55): 126-187.

در مطالعه حاضر بررسی بیان ژن COX-2 مد نظر قرار داده شد. بررسی بیان ژن COX-2 با تکنیک RT-PCR نشان داد که پس از تیمار سلول‌های HT-29 با عصاره زنجبیل روند کاهش بیان ژن‌ها اتفاق می‌افتد در صورتی که در سلول‌های شاهد این کاهش مشاهده نشد.

زنجبیل به دلیل داشتن ترکیب ۶- جینجرول باعث سرکوب التهاب در سلول‌های سرطانی می‌شود و افراد را در برابر ابتلا به سرطان کولون و مرگ و میر ناشی از آن محافظت می‌کند. Zick و همکاران (۲۰۱۵) تاثیر عصاره زنجبیل را روی رده سلولی HCT-115 بررسی کردند. آن‌ها این دودمان سلولی را با ۱ میلی‌گرم عصاره زنجبیل به مدت ۷۲ ساعت انکوبه کردند. سپس میزان پروتئین‌های 5HETE) ۵- هیدروکسی ایکوزانوئیک اسید)، 15HETE (۱۵- هیدروکسی ایکوزانوئیک اسید)، 13-HODE (۱۳- هیدروکسی دکانوئیک اسید)، 12-HETE (۲- هیدروکسی ایکوزانوئیک اسید) PGE2 ( پروستاگلاندین ۲) سلول‌های افراد بیمار را با روش الایزا اندازه‌گیری کردند. آنها میزان آنزیم‌های PGE2 سنتاز-۱، ۵ لیپو اکسیژناز، PGE2 دهیدروژناز و سیکلو اکسیژناز-۲ موجود در پلاسما ۲۶ فرد سالم و ۲۸ بیمار را با روش اسپکتروفتومتری سنجیدند و دریافتند که این آنزیم‌ها در پلاسما خون افراد بیمار افزایش یافته است سپس به این نتیجه رسیدند که عصاره زنجبیل ژن التهابی COX-2 را مهار می‌کند و خطر ابتلا به سرطان کولون را کاهش می‌دهد.

نتایج تحقیقات Seong و همکاران نشان داد که ترکیب ۶- جینجرول باعث افزایش بیان NAG-1 که یک فاکتور سیکلین دخیل در آپاپتوز و خواص ضد توموری است، شده و در نتیجه باعث مهار بیان سیکلین D1 می‌شود. همچنین این ترکیب اثر مهاری بر-β catenin, PKCε و مسیر 3β GSK دارد.

نتایج حاصل از تست MTT در مطالعه حاضر نشان داد که پس از گذشت ۷۲ ساعت از تیمار شدن سلول‌ها با عصاره زنجبیل، بهترین غلظت از عصاره زنجبیل که نیمی از سلول‌ها در آن کشته شده بودند، غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر بود. نتایج نشان دهنده اثر ضد التهابی عصاره زنجبیل از طریق مهار مسیر سنتز پروستاگلاندین ها و در نتیجه کاهش تولید mRNA ژن COX-2 است. زنجبیل در مهار بیان ژن COX-2 و جلوگیری از ایجاد التهابات در سرطان کولون نقش بسزایی دارند.

- Mohebbi, M. M., Wolfe, R., Nourijelyani, K., Mohammad, K., Zeraati, H., et al. 2008. Geographical spread of gastrointestinal tract cancer incidence in the Caspian Sea region of Iran: spatial analysis of cancer registry data. *Bio Medical Central Cancer*, 8(18): 137-165
- Xie, C. J., Robertson, DL., Erikson, RL., Simmous, D.L. 1991. Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase in regulated by mRNA splicing. *Proceeding of National Academy Science USA*, 88(95): 2692-2696.
- Seong-Ho Lee, Seung Joon Baek, Maria Cekanova. 2008. Multiple Mechanisms Are Involved in 6-Gingerol-Induced Cell Growth Arrest and Apoptosis in Human Colorectal Cancer Cells, 47(3): 197-208.
- Yang, J. H., Young, J. 2011. Increased Growth Inhibitory Effects on Human Cancer Cells and Anti-inflammatory Potency of Shogaols from *Zingiber officinale* Relative to Gingeroles. *Journal of Clinical Chimica Acta*, 14(26): 51-76.
- Zick, S.M., Tugenon, P.K., Brenner, P.E. 2015. Effect of ginger root on eicosanoid in colon mucosa in people at normal risk for colorectal cancer. *Journal of Cancer Prevention*, 5(6):12-14.

Archive