اثرکشندگی سلولی عصاره الکلی زنجبیل تازه بر سلول‌های سرطان پستان

جلیل توکل افشاری*
نسرین محقی**
اعظم بروک***

* دکترای ایمنی شناسی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، پژوهشکده بوعلی، مرکز تحقیقات ایمونولوژی، گروه ایمونوژنتیک و کشت سلولی
** کارشناس ارشد ایمنی‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، پژوهشکده بوعلی، مرکز تحقیقات ایمونولوژی، گروه ایمونوژنتیک و کشت سلولی
*** کارشناس ارشد بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، پژوهشکده بوعلی، مرکز تحقیقات ایمونولوژی، گروه ایمونوژنتیک و کشت سلولی

تاریخ وصول:۱۳۸۹/۱/۲۵
تاریخ پذیرش:۱۳۸۹/۳/۱۰

مؤلف مسئول:نسرین محقی
پست الکترونیک:moheghin1@mums.ac.ir

چکیده:

مقدمه و هدف: به طور کلی عصاره بسیاری از ادویه ها اثرات بالای مهار کنندگی بر کشت سلول‌های توموری دارند. مطالعه‌های اخیر نشان می‌دهد که زنجبیل دارای خواص آنتی توموری، ضد قارچ ،حشره کشی و ضد زخم می‌باشد. با این حال تأثیرات آنتی توموری آن برروی رده سلول سرطان پستان انجام نشده است، لذا هدف از این مطالعه بررسی اثر کشندگی سلولی عصاره الکلی زنجبیل تازه بر سلول‌های سرطان پستان بود.

مواد و روش‌ها: این یک مطالعه تجربی است که طی سال‌های ۱۳۸۸-۱۳۸۷ در دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد. در این پژوهش سلول‌های سرطانی و سلول های نرمال در محیط DMEM حاوی سرم جنین گاو و آنتی‌بیوتیک کشت داده شدند. سپس این سلول‌ها در معرض دو گانه غلظت‌های ۵۰۰۰ تا ۷۸/۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره الکلی زنجبیل به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت قرار داده شدند و میزان زنده بودن سلول‌ها به روش MTT تعیین گردید. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری بنفرونی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: بعد از ۴۸ ساعت در غلظت ۱۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ۵۰ درصد سلول‌های سرطانی نسبت به سلول‌های نرمال زنده بودند($p<0/001$)، لذا IC50 در حدود غلظت ۱۲۵۰ در نظر گرفته می‌شود. نتایج مرفولوژی نشان داد که سلول‌های نرمال تحت اثر عصاره هیچ‌گونه تغییرات مرفولوژیکی مشخصی نسبت به سلول‌های کنترل (بدون عصاره) ندارند. سلول‌های سرطانی در روزهای مختلف، تحت اثر غلظت‌های مختلف عصاره، از نظر مورفولوژیک تفاوت‌های بسیار بارز و وابسته به دوزی نشان دادند، به طوری که به تدریج و با افزایش زمان و در دوزهای بالاتر تغییر شکل سلولی بسیار واضح‌تر بود. مهار رشد سلول‌ها، تحلیل رفتگی و افزایش اندازه واکوئل ، کاهش سیتوپلاسم و پیگمانه شدن هسته قابل مشاهده بود.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد عصاره زنجبیل خواص کشندگی سلولی بر روی سلول‌های سرطانی داشته، ولی با این حال اثرات سمی بر سلول‌های نرمال ندارد.

واژه‌های کلیدی:زنجبیل، سرطان پستان، کشندگی سلولی

مقدمه

سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در زنان است و علت اصلی مرگ در اثر بدخیمی، در زنان ۴۰ تا ۴۴ ساله را تشکیل می‌دهد. این سرطان مسئول ۳۳ درصد تمام سرطان‌های زنان و ۲۰ درصد مرگ ناشی از سرطان می‌باشد(۱). شیوع سرطان سینه در کشورهای در حال توسعه در حال افزایش است و در بسیاری از نقاط دنیا به صورت شایع‌ترین بیماری بدخیم در بین بانوان در آمده است، به طوری که آمار جهانی نشانگر ابتلای سالانه ۱/۵ میلیون نفر در سراسر جهان بوده و میزان مرگ و میر ناشی از آن را سالانه ۵۰۲۰۰۰ نفر گزارش کرده‌اند(۱).

سرطان پستان در ایران کمتر از نقاط دیگر آسیا است، در حالی که در طی دهه اخیر شیوع این سرطان در زنان ایرانی رشد بالایی داشته است که نگران کننده می‌باشد، علاوه بر آن در زنان ایرانی پیک سن ابتلای به سرطان پستان حداقل یک دهه جوان‌تر از سن ابتلا در زنان در کشورهای پیشرفته می‌باشد. سن و جنس مهم‌ترین متغیرهای دخیل در بروز سرطان سینه هستند. امروزه مشخص شده است که نرخ مرگ و میر در مردان به دلیل تشخیص دیرتر بیماری در مراحل پیشرفته‌تر بالاتر از زنان است(۱).

گیاه زنجبیل[1] به عنوان دارو، ادویه و خوراک لذیذ در دنیا استفاده می‌گردد. کشت گیاه زنجبیل ابتدا در آسیا بوده که سپس به آفریقای غربی و بعد به کارائیب گسترش یافته است(۲).

بو و طعم خاص زنجبیل ناشی از مخلوط زینجرون[2]، شوگائول[3] وجینجرول[4] ها و روغن‌های فراری است که ۳ درصد وزن زنجبیل تازه را تشکیل می‌دهند. در حیوانات آزمایشگاهی جینجرول‌ها سبب افزایش تحریک دستگاه گوارش گردیده و ضد درد، مسکن و تب بر بوده، خاصیت ضد باکتریایی دارند(۳)، هم‌چنین نیز چربی زنجبیل در موش خاصیت ضد سرطانی دارد(۴). مطالعه‌ها در دانشگاه میشیگان اثر کشندگی جینجرول را بر سلول‌های سرطان تخمدان نشان داده است(۵).

زنجبیل شامل بیش از سه درصد از چربی‌های اساسی معطر است که ترکیب اصلی سسکوئی‌ترپن‌ها را دارا می‌باشند. زینجرون ترکیب اصلی آن می‌باشد. مقدار کمتری از سسکوئی‌ترپن‌ها فارنسن[5] و مقادیر کمی از مونوترپنوئیدها و سیترال[6] نیز در آن وجود دارد. طعم تند زنجبیل ناشی از فنیل پروپانوئید غیر فرار و تا حدی شوگائول وجینجرول می‌باشد که در هنگام طبخ و هم‌چنین خشک شدهٔ گیاه وجود دارد. زنجبیل هم‌چنین یک ترکیب شیمیایی محرک بوده و به این دلیل در جنگ‌های قدیم استفاده می‌شده است. زنجبیل خاصیت بزاق‌آور داشته و سبب تحریک تولید بزاق شده و در نتیجه عمل بلع را آسان می‌نماید.

1-Zingiber Afficinale
2-Zingerone
3-Shogaols
4-Gingerols
5-Farnesene
6-Citral

زنجبیل در طب کاربرد فراوانی داشته و به عنوان یک محرک و داروی ضد نفخ بوده و در کولیک و سوء هاضمه استفاده فراوان دارد. همچنین جهت بر طرف کردن بوی بد برخی دارو ها استفاده می‌گردد(۵). زنجبیل در لیست سازمان دارو و غذا[1] به عنوان داروی معمولاً بی خطر معرفی گردیده است و با داروی وارفارین تداخل دارد. زنجبیل سبب افزایش تولید صفرا می‌گردد(۵). زنجبیل همچنین سبب کاهش درد در افراد مبتلا به آرتریت می‌شود و بررسی‌ها نشان می‌دهد سبب رقیق شدن خون و کاهش کلسترول آن می‌شود و در داروهای سنتی به عنوان ماده مؤثر در درمان بیماری‌های قلبی شناخته شده است(۶ و۲).

در مطالعه‌های دیگری نقش زنجبیل در جلوگیری از تکثیر سلول‌های سرطانی به اثبات رسیده است(۱۱-۷)، لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر کشندگی سلولی عصاره الکلی زنجبیل تازه بر سلول‌های سرطان پستان بود.

مواد و روش‌ها

این یک مطالعه تجربی است که طی سال‌های ۱۳۸۸-۱۳۸۷ در دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد. پوست ریزوم زنجبیل تازه (گونه متعلق به شرق آسیا) کنده و رنده شد و به مقدار۵ گرم از آن با ۱۰ میلی‌لیتراز محلول الکل اتیلیک ۹۶ درجه مخلوط گشته و به مدت ۳۰ دقیقه سونیکه گردید. سپس از صافی گذرانده و در حرارت اتاق خشک شد، عصاره خشک وزن شد و غلظت مورد نظر از آن در محیط کشت DMEM[2] تهیه گردید. این محلول از فیلتر ۰/۲ میکرومتر عبور داده شد و استریل گردید. سپس رقت دو گانه از غلظت ۵۰۰۰ تا ۷۸/۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره تهیه گردید و در پلیت‌های ۹۶ تایی با تعداد سلول‌های ۵۰۰۰ عدد در هر چاهک (سلول‌های هدف و کنترل) به مدت ۲۴، ۴۸ و۷۲ ساعت کشت داده شد. سپس اثرات عصاره بر زنده بودن سلول‌ها از نظر مورفولوژیک وبا استفاده از تست MTT (۳،٤،٥ دی متیل تیازول ۲ یل ۲،٥ دی فنیل تترازولیوم) بررسی گردید.

سلول‌های سرطانی MCF7 (NCBI code 135) و نرمال L929 (NCBI code 161) از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند. سپس در محیط DMEM به همراه ۵ درصد سرم جنین گوساله[3]، پنی‌سیلین ۱۰۰ واحد بر میلی‌لیتر و استرپتومایسین ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کشت داده شدند. سلول‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد در رطوبت ۹۰ درصد و دی‌اکسید کربن ۵ درصد قرار گرفتند.

بعد از ۲۴ ، ۴۸ و ۷۲ ساعت سلول‌ها در معرض عصاره الکلی در رقت دو گانه از غلظت ۵۰۰۰ تا ۷۸/۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره قرار گرفتند. همزمان نمونه کنترل فاقد عصاره نیز به صورت سه‌تایی درمحیط کشت مانند نمونه‌های حاوی عصاره در نظر گرفته شد.

1-Food and Drug Administration (FDA)
2-Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM)
3-Fetal Calf Serum

بررسی زنده بودن سلول‌ها با استفاده از تست MTT مورد ارزیابی قرار گرفت(۱۲). روش‌های متنوعی برای تخمین تعداد سلول بر اساس حضور یک آنزیم یا سوبسترای سلولی خاص یا جذب و سپس استخراج یک رنگ معرفی شده‌اند. MTT افزوده شده به محیط کشت(۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به وسیله فعالیت دهیدروژناز سلول‌های زنده به رنگ فورمازان تبدیل می‌شود. چون محتوی دهیدروژناز سلول‌های یک نوع نسبتاً ثابت است، میزان فورمازان تولید شده متناسب با تعداد سلول است. به طور خلاصه سلول‌ها به تعداد ۵ هزار در هر چاهک ۹۶ تایی پلیت سلولی قرار گرفتند و در زمان‌های۲۴ ، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از اضافه کردن عصاره به سلول‌ها محیط کشت رویی دور ریخته شد و سلول‌ها در محلول MTT (۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتردر بافرنمکی فسفات) به مدت ۴ ساعت قرار داده شدند و پس از محلول سازی فورمازان به وسیله ۱۰۰ میکرولیتر دی‌متیل سولفوکساید[1] جذب نوری آن در ۵۷۰ نانومتر با دستگاه الایزا(Stat Fax 2000 USA) خوانده شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزارSPSS [2] و آزمون آماری بنفرونی[3] تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

نتایج مرفولوژی نشان داد که سلول‌های سرطانی نسبت به غیر سرطانی تیمار شده با عصاره زنجبیل تغییرات مرفولوژیکی دارند. تأثیرات عصاره وابسته به دوز و زمان، قابل مشاهده بود(تصاویر۱ و ۲).

تغییرات مورفولوژی در سلول‌های سرطانی به صورت مهار رشد سلول‌ها و تغییر چسبندگی سلول‌ها به سطح فلاسک و سلول‌ها به یکدیگر و ایجاد مورفولوژی ستاره‌ای شکل ، تغییرات در شکل دیواره سلولی، کاهش سطح سلولی و پیگمانه شدن سلول همراه بود.

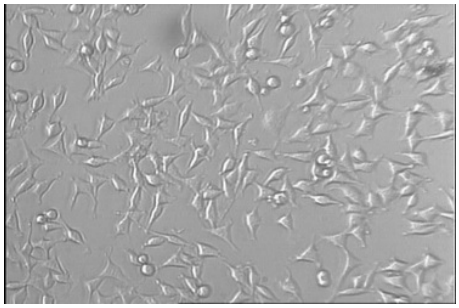
این تغییرات مورفولوژیک مشاهده شده ممکن است بیان‌گر القای مرگ برنامه‌ریزی شده سلول (آپوپتوزیس) در سلول‌های سرطانی تیمار شده با زنجبیل باشد که در سلول‌های غیر سرطانی مشاهده نگردید. سلول‌های تحت اثر عصاره در روزهای مختلف تفاوت‌های بسیار بارز و وابسته به دوزی با یکدیگر نشان دادند. با افزایش زمان وافزایش دوز تغییر شکل سلولی بسیار واضح بود و این تغییرات در سلول‌های سرطانی تا زمان ۴۸ ساعت مشاهده گردید. تغییرات مورفولوژی در سلول‌های سرطانی در زمان ۴۸ ساعت دارای بیشترین اثرات کشندگی سلولی سایتوتوکسیک قابل مشاهده بود. عصاره زنجبیل در سلول غیر سرطانی تأثیر چندانی نداشت.

درصد سلول‌های زنده تحت اثر عصاره نسبت به سلول‌هایی که عصاره‌ای دریافت نکرده بودند با استفاده از فرمول؛ حاصل ضرب جذب نوری

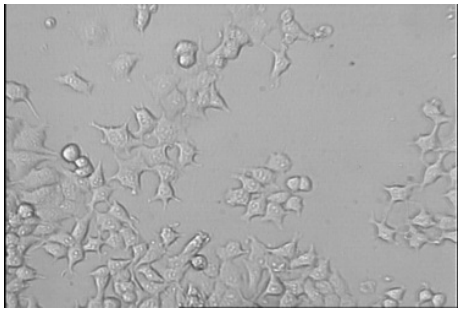
1-Dimethylsulfoxid (DMSO)
2-Statistical Package for Social Sciences
3-Bonferroni Test

سلول‌های تیمار شده با عصاره در هر چاهک در ۱۰۰ تقسیم بر میانگین جذب نوری سلول‌های کنترل محاسبه شد.

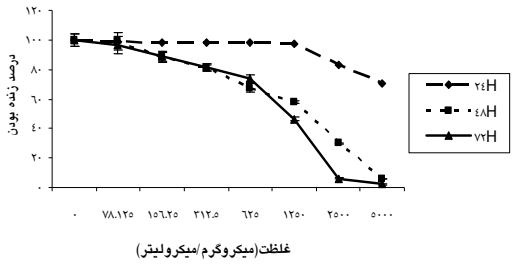
نتایج نشان داد که عصاره الکلی زنجبیل بر روی سلول‌های نرمال اثری ندارد، ولی بر روی سلول‌های سرطانی با توجه به دوز ماده و زمان تأثیر، اثر کشندگی نشان می‌دهد. نتایج حاصله بیان‌گر این مطلب است که بعد از ۴۸ ساعت در غلظت ۱۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۵۰ درصد سلول‌های سرطانی نسبت به گروه کنترل زنده ماندند، لذا IC50 در حدود غلظت ۱۲۵۰ در نظر گرفته شد(نمودار ۱).



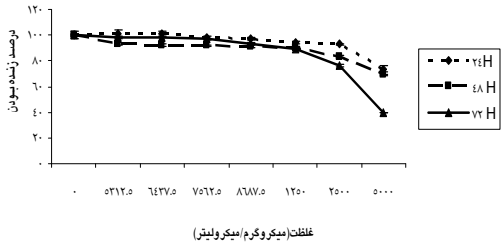
تصویر ۱: سلول‌های نرمال پس از اثر عصاره الکلی بعد از زمان ۴۸ ساعت (میکروسکوپ معکوس، بزرگنمایی۱۰)



تصویر ۲: سلول‌های سرطانی پس از اثر عصاره الکلی بعد از زمان ۴۸ ساعت (میکروسکوپ معکوس، بزرگنمایی۱۰)



الف) تاثیر عصاره الکلی زنجبیل بر سلول‌های سرطانی



ب) تاثیر عصاره الکلی زنجبیل بر سلول‌های سالم

نمودار۱: مقایسه تأثیر کشندگی غلظت‌های مختلف عصاره الکلی زنجبیل، در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه‌های مختلف تأثیر مواد حاصل از زنجبیل بر ممانعت از تکثیر سلول‌های سرطان انسانی از مسیر آپوپتوزیس به اثبات رسیده است (۱۱-۷)، لذا هدف از این مطالعه بررسی اثر کشندگی سلولی عصاره الکلی زنجبیل تازه بر سلول‌های سرطان پستان بود.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره الکلی تازه تهیه شده از ریزوم تازه زنجبیل دارای اثر کشندگی بر سلول‌های سرطان پستان می‌باشد و

تغییرات مورفولوژی مشاهده شده بیان‌گر القای مرگ برنامه‌ریزی شده سلول (آپوپتوزیس) در سلول‌های سرطانی تیمار شده با زنجبیل است، در صورتی که این تغییرات مورفولوژی در سلول‌های غیر سرطانی مشاهده نگردید.

بسیاری از گیاهان و ادویه جات دارای خاصیت فارماکولوژیک و بیوشیمیایی شامل؛ خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد التهاب می‌باشند که به نظر می‌رسد در فعالیت‌های آنتی‌کارسینوژنیک و آنتی‌موتاژنیک دخالت دارند. با توجه به این که پیشرفت تومور ارتباط بسیار نزدیکی با التهاب و استرس اکسیداتیو دارد، ترکیبی که خواص ضد التهابی یا آنتی‌اکسیدانی داشته باشد می‌تواند یک عامل آنتی‌کارسینوژن باشد(۱۲).

جینجرول، شوگائول و ترکیبات ساختمانی مشابه آنها درزنجبیل از بیوسنتز لوکوترین‌ها و پروستاگلاندین‌ها با مهار کردن مسیر ۵ لیپواکسیژناز و پروستاگلاندین سنتتاز جلوگیری می‌نمایند(۱۳).

خاصیت عصاره زنجبیل بر مهار و جلوگیری از گسترش سرطان پوست در موش به اثبات رسیده است و این امر به دلیل ترکیبات وانیلیل کتون[1] آن نظیر۶ -جینجرول و ۶- پارادول[2] می‌باشد(۱۴).

پارک و همکاران[3] (۱۹۹۸) گزارش کردند که استفاده موضعی از ۶ ـ جینجرول و ۶ ـ پارادول باعث تضعیف ایجاد پاپیلوما[4] اولیه در موش ماده گردید و به طور واضح مانع تحریک پروموتوری تومور می‌گردد. هم‌چنین عصاره‌های الکلی زنجبیل نیز دارای این خاصیت است(۱۵). هم‌چنین خاصیت باز دارندگی شیمیایی ماده جینجرول در موش و کاهش کارسینوژنز در سیستم گوارش به اثبات رسیده است(۱۶). تأثیر عصاره‌های استنی زنجبیل نظیر زینجیبرن[5] و هم‌چنین اثر مهاری به طور چشمگیری در زخم معده در حیوان گزارش گردیده است(۱۶).

در مطالعه دیگری اثرات مهاری ۶ جینجرول در رشد سلول‌های سرطان کولون انسان گزارش گردیده است و این اثرات بر مراحل اولیه کارسینوژنز کولون با استفاده از جینجرول در موش نیز گزارش شده است و موجب کاهش بروز تومور می‌گردد (۱۹ ـ ۱۷). تجویزخوراکی عصاره آبی زنجبیل در موش اثر مهاری بر تومور تخمدان داشته است(۲۰).

اثر مهاری جینجرول بر ممانعت از متاستاز سرطان ریه در موش بررسی گردید و احتمالاً این اثر از طریق تحریک عملکرد سیستم ایمنی میزبان انجام می‌شود(۲۱)، هم‌چنین جینجرول دارای اثر آنتی‌آنژیوژنیک بوده و مانع از رشد تومور و متاستاز آن می‌شود(۲۲). زنجبیل در سلول‌های Hep2 از طریق افزایش تولید انواع اکسیژن فعال، سبب آپوپتوزیس می‌گردد(۲۳).

1-Vanillyl Ketones
2-Paradol
3-Park et al
4-Papilomagenesis
5-Zingiberene

در مجموع به نظر می‌رسد عصاره زنجبیل دارای خاصیت مهارکنندگی و کشندگی سلولی بر روی سلول‌های سرطانی پستان می‌باشد، لذا استفاده روزانه آن به صورت خوراکی به خصوص در افرادی که در مناطق با احتمال ابتلای بالاتر به این بیماری هستند، پس از انجام بررسی‌های تکمیلی بیشتر و وسیع‌تر توصیه می‌گردد، لذا پیشنهاد می‌شود بررسی‌های بیشتری جهت استفاده دارویی و دوز درمان خوراکی مؤثر در بیماران مبتلا به سرطان پستان صورت پذیرد.

تقدیر و تشکر

از آن جا که بودجه این طرح از محل اعتبارات طرح‌های پژوهشی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد تأمین شد، تقدیر و سپاس خود را از آن معاونت ابراز می‌دارد.

Ethanolic Extract Cytotoxic Effect of Zingiber Afficinale in Breast Cancer (MCF7) Cell Line

Tavakkol Afshari J[*], Moheghi N[**], Brook A[***].

[*]PhD in Immunology, Immunogenetic and Cell Culture lab, Immunology Research Center, Buali Institute, Mashhad University of Medical Science, Mashhad, Iran
[**]MSc in Immunology, Immunogenetic and Cell Culture lab, Immunology Research Center, Buali Institute, Mashhad University of Medical Science, Mashhad, Iran
*MSc in Biochemistry, Immunogenetic and Cell Culture lab, Immunology Research Center, Buali Institute, Mashhad University of Medical Science, Mashhad, Iran

Received:14/04/2010
Accepted:31/05/2010

Corresponding Author: Tavakkol afshari J
Email: **moheghin1@mums.ac.ir**

ABCTRACT:

Introduction & Objective: Biological activities of Zingiber afficieale plants have been reported as possessing anticancer, antibacterial, anti ulcer, antifungal, and insecticidal properties. However, its antitumor effects haven't been studied in cancer cell lines. The aim of this study was to investigate the antitumor effect of zingiber afficieale on breast cancer cell lines.

Materials & Methods: This experimental study was conducted in 2010 at Mashhad University of medical Sciences. Breast cancer cell line (MCF7) and normal connective tissue cell line (L929) were cultured in DMEM medium. Ethanolic extract of Zingiber afficinale was prepared and cell lines were treated with different concentration of extract (5000 to 78 µg). Cell viability was measured by MTT assay after 24, 48, and 72 hours. The collected data were statistically analyzed by SPSS software.

Results: The effects of Zingiber afficinale on cell viability were observed after 48 hours on cell lines. Ginger doses in 2500 µg concentration inhibited 50% of cell growth (IC50) in cell lines after 48 hours.

Conclusion: Our study revealed that fresh ginger extract has cytotoxic effects on tumor cells, but it doesn't have any cytotoxic effect on normal cells. It seems that ginger could be considered as a promising chemotherapeutic agent in cancer treatment.

Key words: Zingiber Afficinale, Breast Cancer, Cytotoxic Effect

REFERENCES:

1.Mousavi SM, Montazeri A, Mohagheghi MA, Jarahi AM, Harirchi I, Naghafi M, et al. Breast cancer in iran:an epidemiological review. Breast J 2007 ;13(4):383-91.

2.Spices: Exotic Flavours & Medicines: Ginger. Retrieved 2007-08-08. Available From: Spice Exhibit URL: http://unitproj.library.ucla.edu/biomed/spice/index.cfm

3.M.D O' Hara, Mary; MSt; David Kiefer, MD; Kim Farrell, MD; Kathi Kemper, MD, MPH. "A Review of 12 Commonly Used Medicinal Herbs". Archives of Family Medicine 1998; 7 (7): 523–536.

4.Rachel Levin. Glorious Ginger: Root Out Ailments with This Ancient Spice published .Available From URL: http://en.wikipedia.org/wiki/Ginger

5.Al-Achi, Antoine. "A Current Look at Ginger Use. Retrieved 2007-08-02.Available From: URL: ".http://www.uspharmacist.com/oldformat.asp?url=newlook/files/Comp/ginger2.htm&pub_id=8&article_id=772.

6.Masada Y, Inoue T, Hashimoto K, Fujioka M, Shiraki K. Studies on the pungent principles of ginger(Zingiber officinale Roscoe)by GC-MS. Yakugaku Zasshi 1973; 93: 318-21.

7.Lee E, Surh YJ. Induction of apoptosis in HL-60 cells by pungent vanilloids[6]-gingerol and [6]paradol. Cancer Lett 1998; 134(2):163-8.

8.Surh Y. Molecular mechanisms of chemopriventive effect of selected dietary and medicinal phenolic substances. Mutat Res 1999; 428(1-2):305-27.

9.Bode AM, Ma WY, Surh YJ, Dong Z. Inhibition of epidermal growth factor induced cell transformation and activator protein 1 activation by [6]-gingerol. Cancer Res 2001; 61(3): 850-3.

10.Keum YS, Kim J, Lee KH, Park KK, Surh YJ, Lee JM, et al. Induction of apoptosis and caspase-3 activation by chemopreventive [6]-paradol and structurally related compounds in KB cells. Cancer Lett 2002;177(1):41-7.

11.Shukla Y, Singh M. Cancer preventive properties of ginger: A brief review. Food and Chemical Toxicology 2007; 45: 683–90.

12.Mosmann TR. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay. J Immunol Methods 1983; 65: 55-63.

13.Flynn DL, Raerty MF, Boctor AM. Inhibition of human neutrophil 5-lipoxygenase activity by gingerdione, shogaol, capsaicin and related pungent compounds. Prostaglandins Leukotrienes Medi- cine1986; 24: 195–8.

14.Surh Y. Molecular mechanisms of chemopreventive effects of selected dietary and medicinal phenolic substances. Mutation Research 1999; 428: 305–27.

15.Park KK, Chun KS, Lee JM, Lee SS, Surh YJ. Inhibitory effects of [6]-gingerol, a major pungent principle of ginger, on phorbol ester-induced inflammation, epidermal ornithine decarboxylase activ- ity and skin tumor promotion i n ICR mice. Cancer Letters 1998; 129: 139– 44.

16.Kim SO, Chun KS, Kundu JK, Surh YJ. Inhibitory effects of [6]-gingerol on PMA-induced COX-2 expression and activation of NF-jB and p38 MAPK in mouse skin. Biofactors 2004; 21: 27–31.

17.Yoshimi N, Wang A, Morishita Y, Tanaka T, Sugie S, Kawai K, et al. Modifying ects of fungal and herb metabolites on azoxymethane-induced intestinal carcinogenesis in rats. Japanese Journal of Cancer Research 1992; 83: 1273–8.

18.Bode A. Ginger is an ective inhibitor of HCT116 human colorectal carcinoma in vivo. Paper presented at the frontiers in cancer prevention research. Conference Phoenix AZ 2003;13: 26–30.

19.Manju V, Nalini N. Chemopreventive ecacy of ginger, a naturally occurring anticarcinogen during the initiation, post-initiation stages of 1,2 dimethylhydrazine-induced colon cancer. Clinica Chimica Acta 2005; 358: 60–7.
20.Nagasawa H, Watanabe K, Inatomi H. Effects of bitter melon (Momordica charantia l.) or ginger rhizome (Zingiber Affinale rosc) on spontaneous mammary tumorigenesis in SHN mice. American Journal of Chinese M Edicine 2002; 30: 195–205.
21.Suzuki F, Kobayashi M, Komatsu Y, Kato A, Pollard RB. Keishi-ka-kei-to, a traditional Chinese herbal medicine, inhibits pulmonary metastasis of B16 melanoma. Anticancer Research 1997; 17: 873–8.
22.Kim EC, Min JK, Kim TY, Lee SJ, Yang HO, Han S, et al. [6]-Gingerol, a pungent ingredient of ginger inhibits angiogenesis in vitro and in vivo. Biochemical and Biophysical Research Communications 335, 300–308.
23.Viswanadha Vijaya Padma, Swamidurai Arul Diana Christie, Kunga Mohan Ramkuma. Induction of Apoptosis by Ginger in HEp-2 Cell Line Is Mediated by Reactive Oxygen Species. Journal compilation Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology 2007; 100: 302–7.