مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۶، شماره ۱، بهار ۹۵، صفحات ۱۶ تا ۲۱

Original Article

بررسی خواص ضدجهشی و سایتوتوکسیک عصاره پوست سیب *Malus domestica*

ملیحه انتظاری

استادیار سلولی تکوینی، گروه سلولی مولکولی، دانشکده علوم نوین پزشکی، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *در حال حاضر سرطان یکی از علل عمده مرگ و میر در جهان است بنابراین از پیشگیری می‌توان به عنوان مهم‌ترین رویکرد درمانی سرطان درنظر گرفت. رژیم غذایی نقش مهمی در پیشگیری از سرطان بازی می‌کند. امروزه محققان توجه ویژه‌ای به غذاهای طبیعی دارند که می‌توانند به طور چشمگیری نقش پیشگیری از سرطان را داشته باشند. هدف از این تحقیق سنجش خواص ضدجهشی و ضدسرطانی عصاره پوست سیب بود.*

روش بررسی: *در این تحقیق تجربی، سلول‌های سرطانی سندروم سزاری یا لنفوم T انسانی (HUT-78) در محیط RPMI [Sigma] کشت شدند. در این محیط کشت، ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS(Fetal Bovine Serum، L –گلوتامین، پنی سیلین، و استروپتومایسین اضافه شد و در دمای ۳۷ درجه به مدت ۲ روز انکوبه گردید. سپس با عصاره پوست سیب تیمار شدند و با روش MTT، توان زیستی سلول‌ها بررسی شد. همچنین خواص ضدجهشی عصاره پوست سیب بر حسب روش استاندارد سنجش جهش برگشتی (آزمون ایمز) مورد بررسی قرار گرفت.*

یافته‌ها: *در روش MTT، سلول‌های سرطانی لنفوم T انسانی مرگ سلولی معنی‌داری را نسبت به گروه‌های شاهد نشان دادند ($p<۰/۰۱$). در آزمون ایمز، عصاره پوست سیب از موتاسیون برگشتی جلوگیری نمود و درصد بازدارندگی در سنجش ضدجهشی ۸۱/۳ درصد بود.*

نتیجه‌گیری: *در این بررسی، خواص ضدسرطانی عصاره پوست سیب بر روی سلول های سرطانی در شرایط in vitro مشخص گردید و می‌تواند گامی بر ترویج فرهنگ استفاده از پوست سیب در رژیم غذایی جامعه باشد.*

واژگان کلیدی: *ضدجهشی، ضدسرطانی، پوست سیب، سلول‌های سرطانی لنفوم T انسانی، آزمون ایمز.*

مقدمه

سرطان یک هشدار بزرگ عمومی سلامتی در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه است و استفاده از فلاونوئیدها برای پیشگیری یا سرکوب فرآیندهای کارسینوژنیک امروزه دستاورد مهمی است. فلاونوئیدها یک کلاس از متابولیت‌های ثانویه گیاهان هستند که به طور طبیعی در غذاهای با منشأ گیاهی وجود دارند. فلاونوئیدها که به طور وسیع در گیاهان پخش هستند، عملکردهای بسیاری در پیشگیری سرطان از جمله غیر فعال کردن کارسینوژن، ضد تکثیر، توقف چرخه سلولی، القای آپوپتوز، تمایز و توقف آنژیوریژ دارند (۱،۲).

درمطالعات in vivo و in vitro مشخص شده است که بعضی فلاونوئیدها متابولیسم و استقرار کارسینوژن ها را تعدیل می‌کنند و می‌توانند به پیشگیری از سرطان کمک کنند. از فعالیت‌های بیومولکولی مهم فلاونوئیدها موارد ذیل را می‌توان نام برد (۹-۳).

- اثرات ضد اکسیداتیو: غیر فعال سازی رادیکال‌های اکسیژن
- القای آنزیم‌های محافظت کننده: فاز ۲ با فعالیت‌های ترکیبی (GT و GST)
- اتصال به الکتروفیل‌ها
- افزایش میزان آپوپتوز

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشکده علوم نوین پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی، ملیحه انتظاری (**email**: mentezari@iautmu.ac.ir)

تاریخ دریافت مقاله: ۹۴/۶/۱
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۴/۸/۱۷

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-10-30]

- مهار تکثیر سلولی
- مهار پراکسیداسیون لیپید
- مهار رگ‌زایی
- اهدای H (مثلاً GSH – پراکسیدازها)
- مهار اکسیداسیون DNA

سیب منبعی غنی از مواد غذایی و ترکیباتی مانند فیبر، مواد معدنی و ویتامین‌ها است. پوست سیب حاوی مقدار چشم گیری ترپنوئیدهای لیپوفیل است که این تری ترپنوئیدها در لایه کوتیکولی پوست سیب متمرکز شده‌اند. اورسولیک اسید و اولئانولیک اسید فراوان‌ترین تری‌ترپنوئید موجود در پوست سیب هستند (۸،۹).

از شایع‌ترین آزمایش‌ها برای سنجش اثرات ضد جهشی، آزمون ایمز (۱۱و ۱۰) و برای سنجش ضدسرطانی، آزمون توان حیاتی MTT است. هدف از این تحقیق سنجش خواص ضدجهشی و ضدسرطانی **عصاره** پوست سیب بود.

مواد و روشها

در این تحقیق تجربی برای بررسی اثر سایتوتوکسیسیته عصاره پوست سیب بر رده سلول سرطانی و اثرضد جهشی از روش استاندارد آزمون ایمز (Ames) بر روی باکتری‌های جهش یافته سالمونلا تیفی موریوم استفاده شد.

از عصاره استنی پوست سیب قرمز در این مطالعه استفاده شد. سیب قرمز در اواخر شهریور سال ۱۳۹۳ از دامنه جنوبی کوه‌های البرز تهیه و توسط متخصص سیستماتیک گیاهی گونه مورد نظر تایید شد.

پوست‌های ۱ کیلوگرم سیب جدا و پس از خشکاندن پودر آن تهیه شد. سپس ۱gr پودر را در ارلن استریل ریخته و به آن استن اضافه شد. قبل از افزودن استن، پودر به روش تندالیزاسیون در طی ۳ روز استریل شد. پس از گذشت ۱ هفته، عصاره استنی، با کمک کاغذ صافی و در زیر هود استخراج شد.

کشت سلول سرطانی لنفوم T انسانی (HUT-78)

لیمفوبلاست HUT-78 که یک رده لنفوسیتی Human cutaneous T-cells lymphoma (sezary syndrome) است، در محیط RPMI 1640 دارای ۱۰ تا ۲۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS(Fetal Bovine Serum و در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد حاوی ۵ درصد گاز CO_2 کشت شد. برای پس از رشد و ازدیاد سلول‌ها، پس از شمارش به میزان ۵۰۰۰ سلول، آنها به فلاسک منتقل شدند. در تمامی موارد برای هر آزمایش فلاسک در نظر گرفته شد و کلیه آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند.

تعیین درصد سلول‌های زنده در سوسپانسیون سلولی (viability test)

هدف از انجام این تکنیک بیشتر تنظیم وکنترل مقدار سلول‌ها و دانسیته آنها در محیط کشت سلولی است. این تکنیک ناشی از اثر رنگ MTT بر روی سلول‌ها است که سلول‌های زنده را می‌توان از طریق کریستال‌های ارغوانی که ناشی از احیا شدن رنگ توسط دهیدروژناز میتوکندریایی آنها است شمارش و از طریق فرمول زیر درصد سلول های زنده را تعیین کرد.

viability(توان زیستی) = (کل سلول های کشت داده شده / تعداد سلول های زنده) × 100

غلظت‌های مختلف عصاره به سلولها اضافه و پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت، درون انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵٪ CO2، نگهداری شدند.

این روش بر اساس احیائ رنگMTT (dimethylthiazol diphenyl tetrazolium bromide) محلول به یک فراورده نامحلول (Formazan) بنفش آبی توسط فعالیت آنزیم دهیدروژناز میتوکندری در سلول‌های زنده استوار است. برای تهیه محلول MTT با غلظت ۵mg/ml، ۵۰mg ازپودرMTT در ۱۰ml ازPBS، M ۰/۱۵ حل شد و هنگام استفاده در رنگ آمیزی ۱۰ برابر با PBS رقیق گردید تا محلول mg/ml MTT۰/۵ به دست آید. لازم به ذکر است که پس از تهیه PBS، محلول اتوکلاو شد. سلول‌های سرطانی با غلظت‌های مختلف عصاره (صفر، ۱، ۵، ۱۰، ۲۵، و ۵۰mg/ml) در زمان ۴۸ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد وCO_2 ۵ درصد انکوبه شدند. در غلظت صفر عصاره، سلول‌ها تنها با حجم حلال استن به عنوان شاهد تیمار شدند. با محلول MTT mg/ml ۰/۵ رنگ آمیزی، پس از ۳ تا ۵ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد مایع رویی سلول‌ها برداشته شد و به جای آن ۲۰۰ میکرولیتر محلول ایزوپروپانل(Merck, Germany) به حفره های مربوط اضافه شد. پلیت مربوطه به مدت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه روی شیکر قرار گرفت. سپس آن را توسط یک میکروتیتر پلیت ریدر(ELISA-reader, Organon-Teknika, Netherland) در ۵۷۰ نانومتر مطالعه نمودیم. میزان توکسیسیتی ایجاد شده با استفاده از فرمول ذیل مورد محاسبه قرار گرفت.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-10-30]

$$\%\text{Cytotoxicity}=\frac{\text{1- mean absorbance of toxicant}}{\text{Mean absorbance of negative control}}\times 100$$

$$\%\ \text{Viability} = 100 - \%\ \text{Cytotoxicity}$$

برای کم کردن میزان خطای آزمایش در چند چاهک بدون سلول نیز رنگ MTT اضافه وسپس شستشو داده شد و همراه دیگر چاهک‌ها میزان جذب آن خوانده شد ودر نهایت ازکل جذب‌ها کم شد.

تعیین IC50 (میزان مرگ سلول ها به میزان ۵۰ درصد در غلظت خاصی از جهش‌زایی عصاره پوست سیب)

جهت تعیین دوز ۵۰٪ کشندگی مواد توکسیک روی رده سلولی، تمامی اطلاعات به دست آمده (درصد توکسیسیتی) از شاهدها و تست ها وارد برنامه کامپیوتری Pharm-PCS statistical package(Springer-Verlag, New York) شد و میزان دقیق IC50 مربوطه تعیین شد.

آزمون AMES

از باکتری سالمونلا تیفی‌موریوم TA100 برای آزمون Ames استفاده شد. سوش سالمونلا تیفی‌موریوم TA100 موتان محتاج به هیستیدین است. برای آزمون باید از کشت تازه باکتری استفاده شود و مدت زمان انکوباسیون در کشت تازه شبانه باکتری در محیط نوترینت براث نباید از ۱۶ ساعت تجاوز کند. غلظت مناسب باکتری‌ها $1-2x10^9$ سلول در میلی‌لیتر در نظر گرفته شد. آزمون ایمز با اضافه کردن ۱۵mg/ml عصاره به ۰/۵ml کشت تازه شبانه TA100 و ۰/۵ml محلول هیستیدین و بیوتین (۰/۵mM/۰/۵mM) در لوله محتوی ۱۰ml تاپ آگار (50 gr/lit Agar + 50 gr/lit Nacl) و ماده سرطان‌زای آزید سدیم (1.5 µgr/ml Sadium azide) انجام شد. سپس محتویات این لوله پس از ۳ ثانیه تکان‌دهی در سطح محیط گلوکز آگار حداقل (۴۰ درصد glucose) گسترده شدند و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، کلنی‌های برگشتی در پلیت‌های آزمایشی و شاهد شمارش شدند. بسیاری از مواد در شکل اصلی خود از نظر جهش‌زایی سرطان‌زایی غیرفعال هستند و بسیاری از ترکیبات برای بروز خصوصیات جهش‌زایی (سرطان‌زایی) از نظر متابولیکی باید فعال شوند؛ افزودن **عصاره** استریل به عصاره میکروزومی سلول‌های کبد پستانداران مانند موش الزامی است. لذا پس از ۲۴ ساعت گرسنگی ۱۰ موش نر، کبد آنها جدا شد. گرسنگی باعث تحریک ترشح آنزیم‌های کبدی و افزایش آن می‌شود. کبدها در محلول کلرید پتاسیم ۰/۱۵M هموژن شده و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۹۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتیگراد عمل سانتریفوژ انجام شد. مایع رویی (مخلوط، S_9) جدا شد و باکوفاکتورهای لازم (NADP و G-6p (گلوکز ۶ فسفات)) مخلوط شدند و ۰/۵ml برای بررسی خاصیت ضد سرطانی به مخلوط Top agar اضافه شد.

پس از شمارش کلنی‌ها، درصد بازدارندگی از فرمول ذیل محاسبه شد (۱۲):

$$\text{درصد بازدارندگی} = (1-\frac{T}{M})\times 100$$

T نشان دهنده کلنی‌های برگشتی در هر پتری دیش در مجاورت ماده جهش‌زا و **عصاره** و M نشان دهنده کلنی‌های برگشتی موجود در پتری‌های مربوط به کنترل مثبت (ماده جهش‌زا) است.

برای تحلیل داده‌ها از آزمون آماری ANOVA استفاده شد.

یافته‌ها

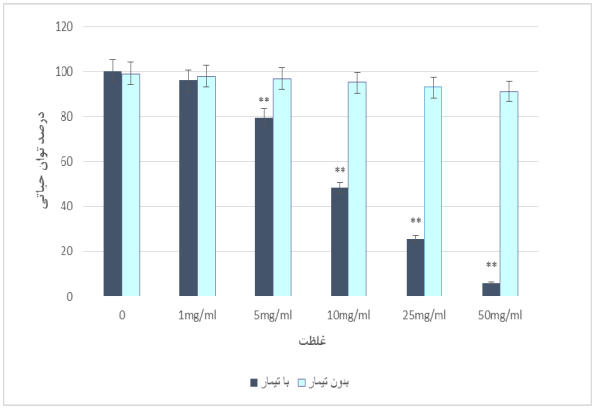
نتایج آزمون توان زیستی

از مقایسه نتایج حاصل از آزمون MTT بر سلول‌های سرطانی که در مجاورت غلظت‌های مندرج در نمودار ۱ از **عصاره** قرار گرفته بودند، مشخص شد که سلول‌های سرطانی توان زیستی خود را از دست می‌دهند و تفاوت معنی‌داری در سرکوبی رشد سلول‌های سرطانی دیده شد ($p<0/01$) (نمودار ۱). با استفاده از نرم افزار Pharm میزان IC50 عصاره در زمان ۴۸ ساعت برای سلول‌های سرطانی اندازه گیری شد. LC50 برای این سلول‌ها ۰/۳±۱۵/۲۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد.

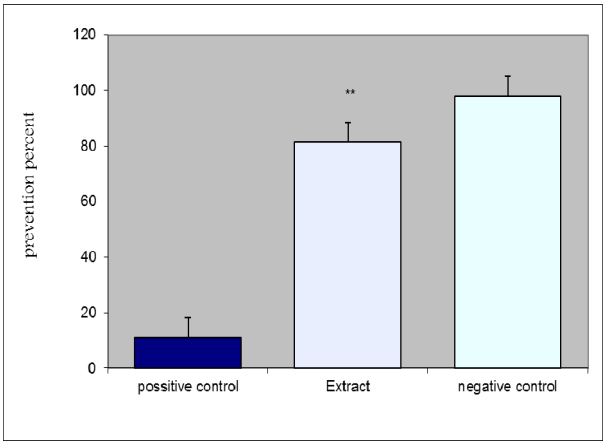
نتایج آزمون ضد جهش‌زایی عصاره پوست سیب

آزمون Ames که در مجاورت غلظت ۱۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره قرار گرفته بودند، تفاوت آماری معنی‌داری در خاصیت ضد جهشی رشد کلنی نسبت به کنترل‌ها (آزید سدیم بعنوان کنترل مثبت و حلال استن به عنوان کنترل منفی) نشان داد ($p<0/01$). با توجه به نمودار ۲ عصاره اثر ضدجهشی قوی دارد.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-10-30]



نمودار ۱. نتایج به دست آمده از سنجش توان زیستی سلول‌های سرطانی پس از تیمار با عصاره



نمودار ۲. نتایج به دست آمده از سنجش درصد بازدارندگی جهشی عصاره

بحث

در بسیاری از کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه، ناراحتی‌های قلبی و سرطان دو عامل اصلی مرگ محسوب می‌شوند. علت هر دو بیماری به شیوه زندگی و به ویژه رژیم غذایی مرتبط است (۱۳).

رژیم غذایی انسان حاوی انواع گسترده‌ای از موتاژن‌ها و کارسینوژن‌های طبیعی و نیز بسیاری از آنتی موتاژن‌ها و کارسینوژن‌ها است و ممکن است سبب تولید رادیکال آزاد شود. رادیکال‌های آزاد همچنین ممکن است به عنوان آغازگرهای درونی فرآیندهای تخریبی عمل کنند و سبب آسیب DNA و جهش شوند (۱۴).

امروزه دانشمندان بر این عقیده هستند که آسیب های ایجاد شده در DNA و بروز جهش در ژن‌ها در سرطان‌زایی و بیماری‌های مزمن نقش به سزایی دارند (۱۲).

مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده‌اند که رژیم‌های غذایی نقش مهمی در پیشگیری از سرطان و دیگر بیماری‌های مخرب ایفا می‌کنند. Liu در سال ۲۰۰۳ در تحقیقی نشان داد افرادی که مقدار اندکی میوه و سبزیجات مصرف می‌کنند، در مقایسه با افرادی که مقدار زیادی میوه و سبزیجات مصرف می‌کنند، دو برابر بیشتر به سرطان مبتلا می‌شوند. وی معتقد است بخش عمده‌ای از اثرات ضد سرطانی میوه‌ها و سبزیجات مربوط به فیتوکمیکال‌ها یا همان ترکیبات گیاهی غیرغذایی است (۱۵). مطالعات دیگر پیشنهاد می‌کنند که آنتی‌اکسیدان‌های موجود در رژیم غذایی دفاع و ایمنی بدن را در مقابل تولید رادیکال-های آزاد افزایش داده و به عنوان ضدسرطان عمل می‌کنند، به عبارت دیگر مهم‌ترین وظیفه آنها حفاظت در برابر اکسیداسیون است (۱۱).

سیب منبعی غنی از مواد غذایی، مواد معدنی، فیبر، کربوهیدرات و فیتوکمیکال است. سیب نه تنها در بسیاری از فرهنگ‌ها میوه‌ای لذیذ محسوب می‌شود، بلکه منبع خوبی از آنتی‌اکسیدان نیز است. تحقیقات نشان داده‌اند که خوردن سیب ممکن است خطر ابتلا به سرطان کولون، پروستات و ریه را کاهش دهد (۱۶).

در تحقیقی که MJ. Mccann در سال ۲۰۰۷ انجام داد، مشخص شد که ترکیبات فنولی موجود در ضایعات سیب (پوست و تفاله سیب) در شرایط آزمایشگاهی بر روی سرطان کولون خاصیت ضدسرطانی داشته است (۱۶).

تحقیقات مختلف، از جمله مطالعه Gerhauser، روی سیب، آب سیب و فرآورده های حاصل از سیب مانند سرکه سیب نشان داده‌اند که پوست حاوی تری ترپنوئیدهایی است که احتمالاً خاصیت آنتی اکسیدانی دارند (۹، ۱۹-۱۷).

همچنین در پژوهشی، Liu و همکارانش بیان کردند که علاوه بر پلی فنول‌های موجود در سیب، تری‌پنوئیدهای جدا شده از پوست سیب نیز از تکثیر سلول‌های سرطان کبد (HepG2)، سلول‌های سرطان سینه (MCF-7) و سلول‌های سرطان کولون(Caco-2) جلوگیری می‌کنند و ممکن است مسئول خاصیت ضدسرطانی سیب باشند (۱۸).

در این مطالعه، بررسی خواص ضدسرطانی عصاره استنی پوست سیب با استفاده از آزمون توان حیاتی و ضد جهش زایی آن با استفاده از سالمونلا تیفی موریوم TA100 و تست ایمز انجام شد. در این تحقیق آزید سدیم به عنوان ماده جهش زا انتخاب شد و اثرات جهش‌زایی آن بر روی سویه TA100 مشخص شد. تعداد کلنی‌های برگشتی در کنترل مثبت در بالاترین حد (نسبت به سایر موارد مورد آزمایش) قرار داشت که با دیگر مطالعات انجام شده به روش ایمز

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-10-30]

هم‌سویی داشت (۱۲). در هر آزمایش، کنترل منفی نیز به منظور سنجش موتاسیون خود به خودی در سویه باکتری در نظر گرفته می‌شود. تعداد کلنی‌های برگشتی در اثر موتاسیون خود به خودی به تعداد باکتری‌های اگزوتروف بستگی دارد که این تعداد به نوبه خود نتیجه عملکرد هیستیدین اضافه شده به پلیت است. اگر تعداد کلنی‌های برگشتی در کنترل منفی به طور غیرعادی زیاد باشد، می‌تواند دو علت داشته باشد: یا آلودگی یا افزایش موتاسیون های خود به خود در اثر تجدید کشت‌های متوالی که در ۲ صورت باید دوباره باکتری را از نمونه اصلی فریز شده جدا و کشت داد (۲۰).

یکی از فاکتورهای مهم در این روش به کارگیری غلظت هیستیدین است. اگر هیستیدین در غلظت بالا به کار رود، باعث افزایش کلنی های ریز می‌شود که شکل آنها با کلنی‌های اصلی باکتری فرق می‌کند و ممکن است با کلنی‌های اصلی و برگشتی باکتری اشتباه گرفته شود و آزمایش توام با خطا گردد. البته همان طور که قبلاً گفته شد، چون سویه باکتری مورد استفاده قادر به سنتز هیستیدین نمی‌باشد، وجود مقدار هیستیدین در محیط برای فعال کردن موتاسیون برگشتی و فعال سازی اپرن هیستیدین باکتری ضروری است (۲۱).

در این بررسی از عصاره کبدی موش (S9) نیز استفاده شد، زیرا بسیاری از مواد ضد سرطانی تا زمانی که در یک فعالیت آنزیمی الکترودینامیک وارد نشوند غیرفعال می‌مانند و نمی‌توانند به DNA متصل شوند. لذا چون باکتری (سالمونلا تیفی موریوم) فاقد این سیستم است ازS9 که حاوی سیستم فعال سیتوکروم است، برای فعال‌سازی این مواد استفاده می‌شود (۲۱).

از این بررسی علاوه بر درک خاصیت ضد جهشی و ضد سرطانی عصاره پوست سیب به این نتیجه می‌رسیم که پوست سیب که عمدتاً به عنوان ضایعات سیب محسوب شده و دور انداخته می‌شود، خود منبعی غنی از آنتی‌اکسیدان است و باید حتماً همراه سیب خورده شود.

REFERENCES

1. Marchand LL, Murphy SP, Kolonel LN. Intake of flavonoids and lung cancer. J Natl Cancer Inst 2000;92:154-60.
2. Rui HL. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. Am J Clin Nutr 2003;78:517-20.
3. Wang HM, Soica CM, Wenz G. A comparison investigation on the solubilization of betulin and betulinic acid in cyclodextrin derivatives. Nat Prod Comm 2012;7:289-91.
4. Sass C, Bojin F, Heges A, Galuscan A, Paunescu V. Oleanolic and ursolic acid in human skin cancer. A preliminary in vitro comparative study. Fiziol Physiol 2012;22:30-33.
5. Surh YJ. Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. Nat Rev Cancer 2003; 3: 768–80.
6. Williamson G, Manach C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. Am J Clin Nutr 2005;81:S243-255.
7. Wolfe K, Liu RH, Xianzhong Wu. Antioxidant activity of apple peels. J Agric Food Chem 2003;51:609-14.
8. Gerhauser C. Cancer chemopreventive potential of apples, apple juice and apple components. Planta Med 2008;74:1608-24.
9. Ames BN. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella mammalian microsome mutagenicity test. Utat Res 1976;31:347-49.
10. Ames BN, Durston WE, Yamasaki E, Lee FD. Carcinoges are mutagens: a simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. Proc Natl Acad Sci 1973;70:2281-85.
11. Ong T, Wong WZ, Stewart JD, Brockman HE. Chlorophyllin:A potent antimutagen against environmental and dietary complex mixture .Mutation Res 1986;173:111-15.
12. Lauthier F, Taillet L, Trouillas P, Delage C, Simon A. Ursolic acid triggers calcium-dependent apoptosis in human Daudi cells. Anticancer Drugs 2000;11:737-45.
13. Xiangjiu HE, Rui Hui L. Triterpenoids Isolated from Apple peels have potent antiproli ferative activity and may be partially responsible for apples's anticancer activity. J Agric Food Chem 2007;55:4366-70.
14. Ong T, Mony W, Stwart JD, Brockman HE. Chlorophyllin: apotent antimutagen against environmental and dietary complex mixture. Mutat Res 1986;173:111-15.
15. Ma CM , Cai SQ, Cui JR, Wang RQ, Tu PF, Hattori M, et al. The cyto toxic Activity of Ursolic Acid derivatives. Eur J Med Chem 2005;40:582-89.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-10-30]

16. McCann MJ, Gill CI, O' Brien G, Rao JR, McRoberts WC, Hughes P, et al. Anticancer properties of phernolics from apple waste on colon carcinogens in vitro. Food Chem Toxicol 2007;45:1224-35.

17. Zhu YM, Shen JK, Wang HK, Cosentino LM, Lee KH. Synthesis and anti-HIV activity of oleanolic acid derivatives. Bioorg Med Chem Lett 2001;11:3115-18.

18. Liu J. Oleandic acid and ursolic acid: research perspectives. J Ethnopharmacol 2005;100:92-94.

19. Zeiger E, Mortelmans K . The ames salmonella/ microsome mutagenicity assay. Mutant Res 2000;455:29-60.

20. Lancaster JE, Dougall Dk. Regulation of Skin Color in apples. Criti Rev Plant Sci 1992;10:487-502.

21. Hakura A, Shimada H, Nakajima M, Sui H, Kitamoto S, Suzuki S, et al. Salmonella/human S9 mutagenicity test: a collaborative study with 58 compounds. Mutagenesis 2005;20:217-28.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-10-30]