BRIEF REPORT

Cytotoxic Effect and Antioxidant Capacity of Different Extracts of Centaurea virgate Lam.

Saeideh Ghafari[1],
Sahar Behzad[2,3],
Arya Maskookian[4]

[1] PhD in Traditional Pharmacy, Traditional Medicine and Materia Medica Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] Evidence-based Phytotherapy and Complementary Medicine Research Center, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran
[4] Doctor of Pharmacy, Student Research Committee, School of Pharmacy, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received June 22, 2020 ; Accepted October 6, 2020)

Abstract

Background and purpose: *Centaurea virgate* Lam. (Gole-Gandome-Booteii or Gole-Gandome-Tarkeii in Persian) from Asteraceae, is one of the medicinal plants which is used in numerous regions, including western regions of Iran. This study aimed at investigating the cytotoxic activity and antioxidant capacity of *C.virgata* extracts.

Materials and methods: Petroleum ether, dichloromethane, ethyl acetate, and methanol extracts were prepared from plant aerial parts. Using MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide) assay, cytotoxic effects of different concentrations of extract were investigated on HepG2, MCF7, HT-29 and A549 cancerous cell lines. The antioxidant capacity of the extracts was measured by 2,2-Diphenyl- Picrylhydrazyl (DPPH) and Ferric Reducing Antioxidant Potential (FRAP) assays.

Results: According to the DPPH test, ethyl acetate extract showed moderate antioxidant activity compared to other extracts. The highest cytotoxic activity was found in dichloromethane extract (IC_{50} = 54.44 µg/ml) against A549 cell line, while other extracts did not show considerable toxicity.

Conclusion: According to several reports on cytotoxicity and antioxidant effects of *Centaurea* plant group, further phytochemical and pharmacological studies are needed to clarify these results.

Keywords: *Centaurea virgate*, cytotoxicity, DPPH, FRAP, antioxidant activity

J Mazandaran Univ Med Sci 2020; 30 (190): 119-125 (Persian).

* **Corresponding Author: Sahar Behzad -** School of Pharmacy, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran (E-mail: s.behzad@sbmu.ac.ir)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-06-06]

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی ام شماره 190 آبان سال 1399 (125-119)

اثرات سمیت سلولی و آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف اندام هوایی گیاه *Centaurea virgata* Lam.

سعیده غفاری[1]
سحر بهزاد[2,3]
آریا مسکوکیان[4]

چکیده

سابقه و هدف: گونه *Centaurea virgate* Lam. با نام فارسی گل گندم بوته‌ای یا ترکه‌ای از خانواده‌ی Astraceae یکی از گیاهان دارویی مورد استفاده در مناطق متعدد از جمله نواحی غربی ایران می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثر سمیت سلولی و اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف گیاه *C.virgata* می‌باشد.

مواد و روش‌ها: عصاره‌های پترولیوم اتری، دی‌کلرومتانی، اتیل‌استاتی و متانولی به ترتیب از اندام هوایی گیاه به روش خیساندن تهیه و با استفاده از روش تقطیر در خلاء خشک شدند. سپس با استفاده از آزمون MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide) اثر سمیت سلولی آن‌ها در غلظت‌های متفاوت بر رده‌های سلولی سرطانی نظیر HepG2، MCF7، A549 و HT-29 مورد بررسی قرار گرفت. هم‌چنین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به وسیله‌ی دو روش DPPH (2,2-Diphenyl- Picrylhydrazyl) و FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Potential) اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: در آزمون DPPH عصاره اتیل‌استاتی گیاه اثر بهتری نسبت به سایر عصاره‌ها از خود نشان داد. هم‌چنین از میان نتایج آزمون MTT بر رده‌های سلولی مورد بررسی، بیش‌ترین اثر سمیت سلولی مربوط به تیمار رده‌ی A549 با عصاره‌ی دی‌کلرومتانی *C.virgata* با مقدار IC_{50} معادل 54/44 µg /ml بود. در حالی‌که سایر عصاره‌ها سمیت سلولی چشم‌گیری از خود نشان ندادند.

استنتاج: با توجه به گزارش‌های متعدد آثار سمیت سلولی و آنتی‌اکسیدانی چشم‌گیر از اغلب گونه‌های جنس *Centaurea*، لازم است آزمایشات تکمیلی فیتوشیمیایی و فارماکولوزیکی جهت تفسیر این نتایج به کار گرفته شود.

واژه های کلیدی: *Centaurea virgata*، سمیت سلولی، DPPH، FRAP، آنتی اکسیدان

مقدمه

ایران با دارا بودن بالغ بر 8000 گونه گیاهی و 1730 گونه انحصاری که بیش از 2300 گونه از آن‌ها دارای خواص دارویی، عطری، ادویه ای و آرایشی- بهداشتی هستند، واجد ظرفیتی کم نظیر در صنایع مرتبط با گیاهان

مولف مسئول: سحر بهزاد: تهران، تقاطع خیابان ولی عصر(عج) و بزرگراه حجه الاسلام هاشمی رفسنجانی، دانشده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی E-mail : s.behzad@sbmu.ac.ir
1. دکترای تخصصی داروسازی سنتی، مرکز تحقیقات طب سنتی و مفردات پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
2. استادیار، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
3. استادیار، مرکز تحقیقات گیاه درمانی و طب مکمل مبتنی بر شواهد، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
4. دکترای داروسازی، کمیته پژوهشی دانشجویان، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
تاریخ دریافت : 1399/4/2 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :1399/5/12 تاریخ تصویب : 1399/7/15

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-06-06]

دارویی محسوب می‌شود. توجه روزافزون جامعه به استفاده از ترکیبات طبیعی و داروهای گیاهی فرصت مغتنمی به‌منظور استفاده هر چه بیش‌تر از ظرفیت موجود به شمار می‌رود(1). در این میان گیاهان جنس گل گندم (*Centaurea*) همواره به دلیل ارزش دارویی بالا و مصارف متعدد در طب سنتی، در مطالعات فیتوشیمیایی و بیولوژیکی در خانواده Asteraceae بسیار مورد توجه بوده‌اند. آثار بیولوژیکی بارزی از جمله ضد التهاب، ضد درد، ضد پلاکت، بهبود دهنده‌ی زخم، ضد باکتری، ضد قارچ، ضد انگل، آنتی‌اکسیدانی و سمیت سلولی از این جنس گزارش شده است(2). گیاه *Centaure virgate*، با نام فارسی گل گندم بوته‌ای یا ترکه‌ای یکی از گیاهان سنتی مورد استفاده در ترکیه و غرب ایران است که در درمان ورم ملتحه چشم، درمان جوش‌ها و آکنه و به عنوان ادرارآور قوی، ضدسرفه و ضد رماتیسم در برخی مناطق از قبیل زاگرس مورد استفاده قرار گرفته است(3). با توجه به موارد مصرف سنتی گیاه و الزام بررسی‌های سلامت و ایمنی نمونه‌های این گیاه برای ورود به بازار دارویی، انجام بررسی‌های سمیت سلولی و اطلاع از عوارض احتمالی ضروری به نظر می‌رسد. علاوه بر این با توجه به گزارشات متعدد حضور ترکیبات فنولی در جنس گل گندم و آثار آنتی اکسیدانی چشم‌گیر سایر گونه‌های این جنس، بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین در این مطالعه، به بررسی آثار فوق‌الذکر عصاره‌های مختلف این گونه برای اولین بار پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی-کاربردی، با کد اخلاق SBMU.PHARMACY.REC.1396.242 مورد تائید قرار گرفته است. اندام هوایی گیاه *Centaure virgata* در اواخر بهار 97 در فصل گل‌دهی از استان همدان، حوالی روستای شهرستانه جمع‌آوری شد و یک نمونه هرباریومی از گیاه پس از شناسایی توسط کارشناس مرکز تحقیقات منابع طبیعی، در هرباریوم مرکز تحقیقات منابع طبیعی استان کردستان با شماره هرباریومی 195 نگهداری شد. نمونه گیاهی در سایه و در معرض جریان هوا خشک و سپس آسیاب شد. عصاره‌های پترولیوم اتری، دی‌کلرومتانی، اتیل‌استاتی و متانولی با افزودن حلال به پودر خشک شده گیاهی توسط روش خیساندن همراه با به‌هم‌زدن به‌مدت 72 ساعت تهیه شدند. سپس عصاره‌های به دست آمده به کمک دستگاه تقطیر در خلاء، تغلیظ و خشک و تا زمان انجام آزمایشات بعدی در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جهت ارزیابی سمیت سلولی عصاره‌های تهیه شده، رده‌های سلولی سرطانی نظیر HepG2 (کارسینومای هپاتوسلولار انسانی)، MCF7 (آدنوکارسینومای سینه انسان)، A549 (کارسینومای ریه انسان) و HT-29 (آدنوکارسینومای کولون انسان) پس از تهیه از انستیتو پاستور تهران در محیط‌های کشت مربوطه کشت داده شدند. برای سلول‌های A549 و HepG2 از محیط کشت RPMI 164 حاوی 10درصد FBS (سرم جنین گاوی) و برای سلول‌های MCF7 و HT-29 از محیط کشت DMEM حاوی 5 درصد و 10درصد FBS استفاده شد. همه رده‌های سلولی با 1درصد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین - استرپتومایسین در انکوباتور CO_2 5 درصد در رطوبت کافی و دمای 37°C کشت داده شدند. بررسی اثر سمیت سلولی توسط روش رنگ سنجی MTT در پلیت‌های 96 خانه انجام شد. بدین ترتیب که با توجه به منحنی رشد سلول‌ها، برای رده های سلولی HT-29 تعداد 5000 سلول، A549 تعداد 8500 سلول، HepG2 تعداد 10000 سلول و MCF7 تعداد 9000 سلول در هر چاهک پلیت کاشته شد. پس از 24 ساعت انکوباسیون و پس از اطمینان از رشد 80 درصد سلول‌ها، محیط کشت رویی آن‌ها تخلیه شد و سپس محیط کشت تازه به همراه غلظت‌های مورد نظر از عصاره‌های گیاهی (100µg/ml، 50، 25، 12/5، 6/25، 3/125) به هر چاهک اضافه

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-06-06]

گردید. برای رقیق‌سازی عصاره‌ها از DMSO استفاده شد و غلظت نهایی آن به کم‌تر از 0/1 درصد رسید تا برای سلول‌ها سمی نباشد. برای هر عصاره 3 ستون چاهک و برای هر غلظت یک عصاره 3 چاهک و هم‌چنین یک ستون به عنوان کنترل در نظر گرفته شد. پس از گذشت 72 ساعت، با تخلیه محیط کشت قبلی، محلول MTT به آن‌ها اضافه شد و پس از 4 ساعت انکوبه شدن، با حذف محیط روی هر چاهک، کریستال‌های فورمازان حاصله در DMSO حل شده و جذب نمونه با دستگاه الایزاریدر در طول موج 570 nm خوانده شد. درصد بقای سلولی با تقسیم جذب نوری نمونه‌های مورد آزمون بر جذب نوری کنترل در برابر غلظت عصاره حاصل شد. ترکیب 5FU به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد(4).جهت سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از روش‌های DPPH و FRAP استفاده شد.در روش اول به 200 میکرولیتر از هر یک از رقت‌های تهیه شده از عصاره‌ها و BHT مقدار 2 میلی‌لیتر محلول DPPH اضافه شد. محلول کنترل از DPPH و محلول بلانک از عصاره‌ها و BHT به عنوان کنترل مثبت تهیه شد. سپس جذب آن‌ها در طول موج 518 نانومتر با کمک دستگاه اسپکتروفوتومتر UV-Vis اندازه‌گیری شد. برای هر محلول درصد مهار رادیکال آزاد DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد(5).

$$\text{درصد مهار رادیکال DPPH} = 100 * \frac{ODc-(ODs-ODb)}{ODc}$$

ODc : میزان جذب کنترل

ODs : میزان جذب نمونه

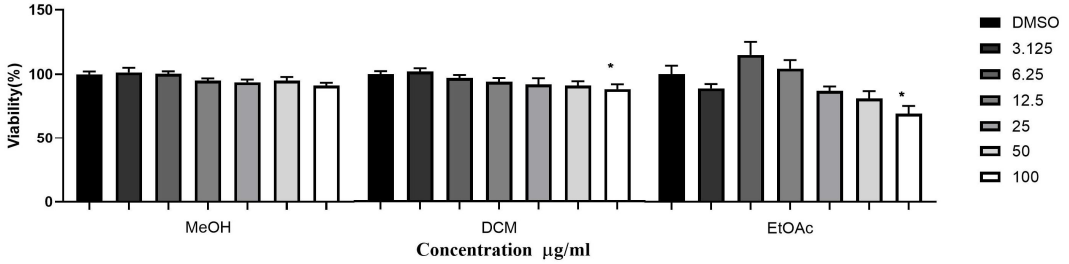
ODb : میزان جذب بلانک

برای انجام آزمایش FRAP، به نمونه های عصاره داخل هر یک از چاهک‌های مشخص شده پلیت 24 خانه محلول FRAP ، افزوده شد. با خواندن جذب پلیت‌ها در طول موج 593 نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر، منحنی کالیبراسیون $FeSO_4,7H_2O$ رسم شد و با قرار دادن جذب هر نمونه در معادله منحنی، میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن به صورت ارزش FRAP بر حسب میکرومولار $FeSO_4,7H_2O$ محاسبه شد(6). محاسبات آماری و رسم نمودارها با استفاده از برنامه Graphpad Prism 8 و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه انجام شد و P value کوچک‌تر از 0/05 به‌عنوان مرز معنی داری در نظرگرفته شد. در روش‌های سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی منحنی لگاریتم غلظت- درصد مهار آنتی‌اکسیدان و میزان IC_{50} برای هر نمونه از عصاره‌ها و استاندارد و در سنجش اثر سمیت سلولی منحنی لگاریتم غلظت-زنده مانی (viability) برای نمونه‌ها و همچنین میزان IC_{50} رسم و محاسبه شد. هر آزمایش حداقل سه بار تکرار شد.

یافته ها و بحث

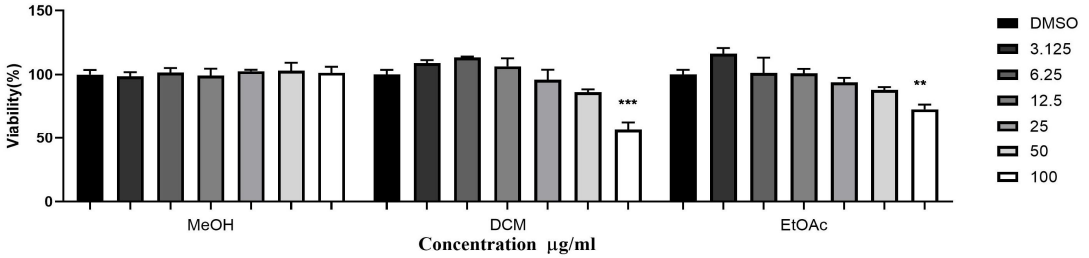
در این مطالعه برای اولین بار اثرات سمیت سلولی چهار عصاره (متانولی، دی‌کلرومتانی، اتیل‌استاتی و پترولیوم‌اتری) گیاه *C. virgata* با بهره‌گیری از آزمون MTT و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاه به کمک دو روش FRAP و DPPH مورد بررسی قرار گرفت. از 100گرم پودر خشک گیاه ،درصد بازدهی برای عصاره پترولیوم اتری 1/18 درصد، برای عصاره دی‌کلرومتانی 0/2 درصد، برای عصاره اتیل‌استاتی 0/05 درصدو برای عصاره متانولی 1/85 درصد محاسبه شد. در مطالعه‌ی حاضر در بررسی اثر سمیت سلولی گیاه مذکور به کمک روش MTT، مقدار IC_{50} محاسبه شده برای عصاره‌ی دی‌کلرومتانی بر روی رده A549 ، 54/44 µg /ml بوده و این مقدار برای دیگر عصاره‌ها بر روی رده‌های سلولی مورد آزمایش بیش‌تر از 100 µg /ml اندازه‌گیری شد (نمودارهای شماره 1-4). با توجه به منابع موجود مبنی بر ارزیابی سمیت عصاره‌های گیاهی، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که از بین عصاره‌های مورد مطالعه، تنها اثر عصاره‌ی دی‌کلرومتانی بر رده‌ی A549 را می‌توان به عنوان سمیت سلولی متوسط در نظر گرفت و دیگر عصاره‌ها از این جهت آثار قابل قبولی از خود نشان ندادند(7).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-06-06]



نمودار شماره 1: تأثیر غلظت‌های مختلف (3/125-100 µg/ml) 3 عصاره‌ی گیاه *Centaurea virgata* بر زیست‌پذیری رده سلولی HepG2 توسط تست MTT.

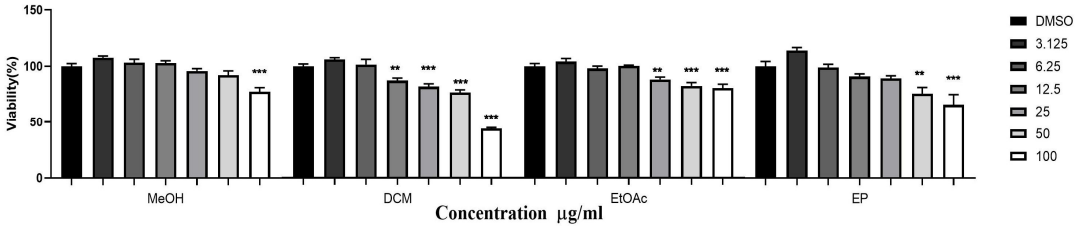
* : P<0/05 در مقایسه با کنترل می‌باشد.



نمودار شماره 2: تأثیر غلظت‌های مختلف (3/125-100 µg/ml) 3 عصاره‌ی گیاه *Centaurea virgata* بر زیست‌پذیری رده سلولی MCF7 توسط تست MTT.

** : P<0/01 در مقایسه با کنترل می‌باشد.

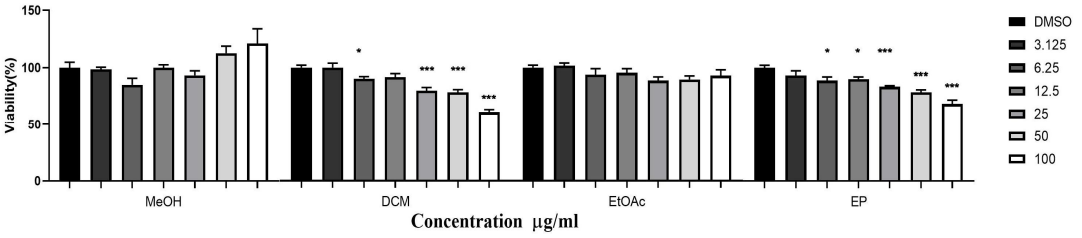
*** : P<0/001 در مقایسه با کنترل می‌باشد.



نمودار شماره 3: تأثیر غلظت‌های مختلف (3/125-100 µg/ml) 4 عصاره‌ی گیاه *Centaurea virgata* بر زیست‌پذیری رده سلولی A549 توسط تست MTT.

** : P<0/01 در مقایسه با کنترل می‌باشد.

*** : P<0/001 در مقایسه با کنترل می‌باشد.



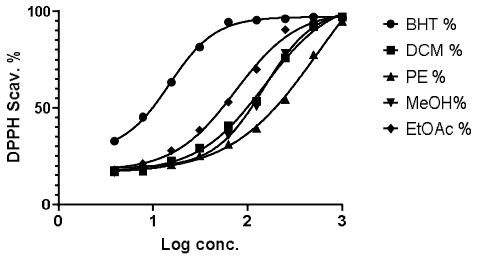
نمودار شماره 4: تأثیر غلظت‌های مختلف (3/125-100 µg/ml) 4 عصاره‌ی گیاه *Centaurea virgata* بر زیست‌پذیری رده سلولی H-T29 توسط تست MTT.

* : P<0/05 در مقایسه با کنترل می‌باشد.

*** : P<0/001 در مقایسه با کنترل می‌باشد.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-06-06]

هم‌چنین در مطالعه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی این گونه، عصاره اتیل‌استاتی با مقدار IC_{50} =74/80 µg/ml و 3 عصاره دیگر با مقدار IC_{50} بالای 100 µg/ml، نسبت به BHT به عنوان کنترل با IC_{50} =14/90 µg/ml آثار چشم‌گیری از خود نشان ندادند (نمودار شماره 5 و جدول شماره 1و2).



نمودارشماره 5: منحنی غلظت پاسخ (درصد مهار رادیکال آزاد DPPH) عصاره‌های مورد مطالعه گیاه *C.virgata* و مقایسه آن با BHT

جدول شماره 1: مقدار IC50 (محدوده قابل اطمینان 95%) عصاره‌های مورد مطالعه‌ی گیاه *C.virgata* و ترکیب استاندارد BHT

عصاره/ترکیب	IC_{50}(µg/ml)
دی‌کلرومتانی	151/6 (118/8 - 218/8)
پترولیوم اتری	552/9 (306/8 - 9572)
متانولی	148/9 (111/3 - 225/5)
اتیل‌استاتی	74/8 (58/1 - 96/1)
BHT	14/9 (13 - 17/4)

جدول شماره 2 : مقدار (µM) یون Fe(III) کاهش یافته به Fe(II) در مجاورت عصاره متانولی و مقایسه آن با BHT

ترکیب	مقدار (µM) یون Fe(III) کاهش یافته به Fe(II)
BHT	2207/43
عصاره متانولی	556/18

در مطالعات پیشین، عصاره دی‌کلرومتانی این گیاه اثر متوسطی بر مهار آنزیم گزانتین اکسیداز (IC_{50}, 98/9 ± 15/8 µg/ml) از خود نشان داده است. از این عصاره ترکیبات سزکویی‌ترپنی(8α-hydroxysonchucarpolide، 8α-(3,4-dihydroxy-2-methylenebutanoyloxy)-dehydromelitensine و cnicin)، فلاونوئیدهایی از قبیل فلاون (apigenin، hispidulin، salvigenin، eupatorin، 3'-methyleupatorin) و فلاونول (isokaempferide) جداسازی و خالص‌سازی شده است. در این میان ترکیبات سزکویی ترپنی و فلاونوئیدی که حاوی گروه متوکسی بر کربن شماره 7 بودند، بر مهار آنزیم گزانتین اکسیداز اثری نداشتند. هم‌چنین ظرفیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فلاونوئیدی جداشده توسط روش DPPH مورد ارزیابی قرار گرفت، که نتایج حاکی از این بود که هیچ کدام از این ترکیبات آثار آنتی اکسیدانی از خود نشان ندادند(8). علاوه بر این برخی ترکیبات جدا شده از این گیاه نیز اثر سمیت سلولی بارزی بر رده‌های سلولی سرطانی از خود نشان نداده‌اند. به عنوان مثال، دو ترکیب salvigenin و hispidulin که از گیاه *Gardenia sessiliflora* جدا شده بودند بر هیچ یک از رده‌های سلولی MCF7، A549 و HT-29 اثر سمیت سلولی از خود نشان ندادند(9). در نهایت به نظر می‌رسد که گزارشات قبلی با نتایج مطالعه حاضر نیز همخوانی دارند. عصاره‌های مختلف این گیاه همچنین آثار آنتی‌باکتریال متنوعی بر سوش‌های *Bacillus subtilis*، *Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Escherichia coli* از خود نشان داده است که آن را به کاندیدای مناسبی به عنوان ضد باکتری طبیعی در محصولات درمانی و آرایشی پوستی با توجه به مصرف سنتی گیاه تبدیل می‌نماید(10). در تکمیل مطالعات صورت گرفته بررسی‌های سمیت حاد، تحت مزمن و آثار ضد التهابی گیاه به صورت درون تن نیز پیشنهاد می‌شود.

References

1. Amiri Aghdaie S, Zare Zardeini H. Investigating effective factors on improvement and development of medicinal Pants in Iran (case study Isfahan city). New Marketing Research 2014; 4(1): 195-214 (Persian).
2. Khammar A, Djeddi S. Pharmacological and

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-06-06]

biological properties of some Centaurea species. European Journal of Scientific Research 2012; 84(3): 398-416.

3. Delfan E, Khodayari H, Azizi K. Ethnobotany of endemic medicinal plants in Zaghe and Beyranshahr districs, Lorestan province, Iran. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants 2019; 28(4): 1-13 (Persian).
4. Azizsoltani A, Piri K, Behzad S, Soleimani M, Nekouei M, Mahmoudi Z, et al. Ethyl acetate extract of licorice root (Glycyrrhiza glabra) enhances proliferation and osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells. Iranian Journal of Pharmaceutical Research 2018; 17(3): 1057-1067.
5. Zaabat N, Hay AE, Michalet S, Skandrani I, Chekir Ghedirac L, Dijoux Francaa MG, et al. Chemical Composition, Antioxidant,Genotoxique and Antigenotoxic Potentials of Phlomis Bovei De Noé Aerial Parts. Iranian Journal of Pharmaceutical Research 2020; 19(1): 282-291.
6. Katalinic V, Milos M, Kulisic T, Jukic M. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. Food Chemistry 2006; 94(4): 550-557.
7. Teicher BA, Andrews PA. Anticancer Drug Development Guide. Preclinical Screening, Clinical Trials, and Approval 2004.
8. Tuzun BS, Hajdu Z, Orban Gyapai O, Zomborszki ZP, Jedlinszki N, Forgo P, et al. Isolation of chemical constituents of centaurea virgata lam. And xanthine oxidase inhibitory activity of the plant extract and compounds. Medicinal Chemistry 2017; 13(5): 498-502.
9. Thanasansurapong S, Tuchinda P, Reutrakul V, Pohmakotr M, Piyachaturawat P, Chairoungdua A, et al. Cytotoxic and anti-HIV-1 activities of triterpenoids and flavonoids isolated from leaves and twigs of Gardenia sessiliflora. Phytochemistry Letters 2020; 35: 46-52.
10. Moghaddam NS, Eryılmaz M, Altanlar N, Yıldırım O. Antimicrobial screening of some selected Turkish medicinal plants. Pak J Pharm Sci 2019; 32(3): 947-951.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-06-06]