Original Article

Investigation of the effect of essential oil from *Citrus aurantium* L. flowers on liver health parameters in a laboratory animal model

Hamedi A[1*], Jamshidzadeh A[2], Dana M[3], Pasdaran A[4], Heidari R[2]

1- Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, I.R. Iran.
2- Pharmaceutical Sciences Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, I.R. Iran.
3- Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, I.R. Iran.
4- Medicinal Plant Processing Research Centre, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, I.R. Iran.

Received: 2019/07/14 | Accepted: 2020/02/16

Abstract:

Background: In Persian food culture, *Citrus aurantium* L. (bitter orange) flowers and essential oil are consumed as jams or plant distillate in high doses. Some concerns were mentioned in Persian traditional literature about their effects on the liver. This study aimed to investigate the effect of the essential oil from *C. aurantium* L. flowers on liver health parameters in a laboratory animal model.

Materials and Methods: The essential oil was extracted by Clevenger-type apparatus and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. Six groups of rats (n=5) received intraperitoneal or oral essential oil with the doses of (0.5, 1 or 2 g/kg) for 3 days. The two control groups received olive oil (the vehicle). Forty-eight hours after the last administration, serum and liver samples were prepared and alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH) and glutathione (GSH) were determined. The liver histopathological changes was investigated.

Results: The main ingredients of the essential oils were linalyl acetate, terpinene-4-ol, linalool and phenethyl alcohol. The intraperitoneal administration of essential oil at doses higher than (1 g/kg) caused a significant increase in AST, ALT and LDH levels. Inflammation of the liver tissue was observed at oral and intraperitoneal doses higher than (1 g/kg).

Conclusion: The changes in AST, ALT and LDH levels showed that at high doses of the essential oil had a mild liver toxicity and the histopathologic data confirmed this. These complication were probably due to direct and non-oxidant toxicity and it was not due to the oxidative stress.

Keywords: Essential oil, Bitter orange blossom, Liver toxicity, Gas chromatography–mass spectrometry

***Corresponding Author:**
Email: azadeh.hamedi@gmail.com
Tel: 0098 713 242 4127
Fax: 0098 713 242 4256

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, April, 2020; Vol. 24, No 1, Pages 38-47

Please cite this article as: Hamedi A, Jamshidzadeh A, Dana M, Pasdaran A, Heidari R. Investigation of the effect of essential oil from *Citrus aurantium* L. flowers on liver health parameters in a laboratory animal model. ***Feyz*** 2020; 24(1): 38-47.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-02]

بررسی اثر اسانس بهارنارنج (*Citrus aurantium* L.) بر شاخص‌های سلامت کبدی در مدل حیوان آزمایشگاهی

آزاده حامدی [۱*]، اکرم جمشیدزاده [۲]، مهسا دانا [۳]، اردلان پاسداران [٤]، رضا حیدری [۲]

خلاصه:

سابقه و هدف: در فرهنگ غذایی ایرانی، گل‌ها و اسانس بهارنارنج در قالب مربا و عرقیجات در مقادیر بالا مصرف می‌شود. در طب سنتی ایرانی در مورد اثرات عرق بهارنارنج روی کبد نگرانی‌هایی ذکر شده است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر اسانس بهارنارنج بر شاخص‌های سلامت کبدی در مدل حیوانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: اسانس بهارنارنج با کلونجر استخراج و توسط کروماتوگرافی گازی - جرمی آنالیز شد. سپس با دوزهای (g/kg ۲ و ۱، ۰/۵) به‌مدت سه روز به‌صورت تک‌دوز از طریق داخل‌صفاقی یا خوراکی برای شش گروه پنج‌تایی موش صحرایی تجویز شد. برای دو گروه کنترل (g/kg ۱) روغن زیتون (حامل اسانس) تجویز شد. ٤٨ ساعت بعد از آخرین تجویز، نمونه‌گیری خون و بافت کبد جهت تعیین آلانین امینو ترانسفراز (ALT)، اسپارات امینو ترانسفراز (AST)، لاکتات دهیدروژناز (LDH) و گلوتاتیون (GSH) انجام شد و مطالعات هیستوپاتولوژیک صورت گرفت.

نتایج: ترکیبات اصلی اسانس، لینالیل استات، ترپینن-٤-ال، لینالول و فنتیل الکل بود. تجویز صفاقی اسانس در دوزهای بالاتر از (g/kg ۱) موجب افزایش معنی‌دار AST، ALT و LDH شد. این اسانس در غلظت‌های بالاتر از (g/kg ۱) در تجویز خوراکی و داخل‌صفاقی باعث التهاب بافت کبدی شد.

نتیجه‌گیری: تغییرات آنزیم‌های AST، ALT و LDH و داده‌های هیستوپاتولوژی نشان داد که این اسانس در دوزهای بالا، دارای سمیت خفیف کبدی می‌باشد. این عوارض ناشی از استرس اکسیداتیو نبوده، احتمالاً از طریق سمیت مستقیم و غیراکسیداتیو ایجاد می‌شود.

واژگان کلیدی: اسانس، بهارنارنج، سمیت کبدی، کروماتوگرفی گازی - جرمی

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیست و چهارم، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۹، صفحات ٤٧-۳۸

مقدمه

فرآورده‌های مختلف حاصل از اندام‌های گیاهان جنس مرکبات (Citrus) از دیرباز در فرهنگ غذایی و طب سنتی ایران کاربرد غذایی و دارویی داشته‌اند. اندام‌های مختلف گونه‌های این جنس حاوی ترکیبات فعالی مثل کومارین‌ها، فلانوئیدها و مونوترپن‌ها می‌باشند [۱]. یکی از گونه‌های مرکبات، نارنج با نام علمی *Citrus aurantium* L. از خانواده Rutaceae می‌باشد که از جمله گیاهان پرمصرف و بومی مناطق گرم و نیم‌گرم ایران از جمله استان‌های گیلان، مازندران و فارس است که با نام عمومی bitter orange یا sour orange شناخته می‌شود.

قسمت مورد استفاده درخت نارنج، گل (شکوفه)، پوست میوه و آب نارنج می‌باشد که همگی دارای خواص غذایی و دارویی هستند. بهارنارنج شامل شکوفه‌های درخت نارنج است. از این شکوفه‌ها اسانس یا روغن فرار بهارنارنج تهیه می‌شود که به نام روغن نرولی (Neroli oil) معروف است و در صنایع غذایی، آرایشی - بهداشتی و دارویی کاربرد دارد. به‌علاوه اسانس بهارنارنج به‌صورت سنتی به‌عنوان مسکن و نیز جهت رفع مشکلات عصبی و بدخوابی مورد استفاده قرار می‌گیرد و در فرآورده‌های ترکیبی آرام‌بخش به‌عنوان یکی از اجزای جانبی به کار می‌رود [۲]. از شکوفه‌های بهارنارنج پس از طی مراحل شیرین‌سازی جهت تهیه انواع مربا و مارمالاد استفاده می‌شود. به‌علاوه شکوفه‌های بهارنارنج به‌عنوان چاشنی و معطرکننده چای، بستنی و سایر شیرینی‌جات کاربرد دارد و عرق تهیه‌شده از بهارنارنج به‌عنوان نوشیدنی خوراکی و دارویی به مصرف می‌رسد. در طب سنتی ایران از آن به‌عنوان نشاط‌آور، مقوی مغز و ریه و دستگاه گوارش یاد شده است [۵-۳]. عرق بهارنارنج که در متون طب سنتی ایران تحت عنوان ماءالقداح نامیده می‌شود، به‌عنوان عرقی ملطف و محلل معرفی شده است که می‌تواند جهت برخی انواع سردرد (صداع بارد)، رفع ضعف مغز، رفع نزله‌ها، درد سینه،

۱. دانشیار، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

۲. استاد، گروه سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

۳. دانشجو، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

۴. استادیار، مرکز تحقیقات فرآوری گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

* **نشانی نویسنده مسؤول:**
دانشگاه علوم پزشکی شیراز، مرکز تحقیقات فرآوری گیاهان دارویی، شیراز، ایران

تلفن: ۰۹۱۲۶۳۰۸۲۲۷ **دورنویس:** ۰۷۱۳۲۴۲۴۲۵۶

پست الکترونیک: azadeh.hamedi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۴/۲۳ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۳۹۸/۱۱/۲۷

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-02]

تپش قلب، قولنج، تقویت اشتها، اسهال، نفخ، مشکلات قاعدگی و سنگ کلیه مفید باشد. به‌علاوه در برخی متون ذکر شده که مصرف آن در موارد اسپاسم به‌ویژه درد ناحیه شکم کودکان، ضعف اعصاب، بی‌خوابی‌های با منشأ عصبی، ضعف جریان گردش خون و ضعف نیروی جنسی می‌تواند مفید باشد [۵-۳]. در کتاب مخزن‌الادویه عرق بهارنارنج به‌عنوان مقوی معده ولی مضر کبد معرفی شده است [۳]. آنالیز مواد تشکیل‌دهنده اسانس فرار گل‌ها و یا برگ‌های جوان این گیاه حاکی از وجود لینانول، لینانیل‌استات و لیمونن بوده است. به‌علاوه درصد قابل‌توجهی ترکیبات فلاونوئیدی در بهارنارنج شناسایی شده است [۸-٦]. در مطالعات علمی ترکیبات فلاونوئیدی بهارنارنج، اثر تقویت‌کننده‌ای را روی قدرت انقباضی قلب نشان داده‌اند [۹]. به‌علاوه برخی مطالعات اثرات ضدّسرطانی، ضدّترومبوز، ضدّایسکمی، آنتی‌اکسیدانی، گشادکننده عروق و ضدّالتهابی را نیز از فلاونوئیدهای گیاه بهارنارنج گزارش نموده‌اند. مهم‌ترین فلاونوئیدهای بهارنارنج شامل هسپریدین، نارینجین و نئوهسپریدین است که جزء دسته فلاوانون می‌باشند. همچنین از دسته فلاون‌های آن می‌توان به دئوسپسن و آپی‌جنین اشاره نمود [۱٤-۱۰]. ترکیب لینالول موجود در بهارنارنج باعث کاهش بروز حمله‌های صرعی در مدل آزمایشگاهی موش‌سوری شده است [۱۵]. مقالات متعددی به اثرات آرام‌بخش، ضدّاضطراب و ضدّصرع اسانس بهارنارنج اشاره نموده‌اند [۱۷،۱٦]. از عوارض مصرف بیش از حدّ فرآورده‌های حاصل از میوه نارنج می‌توان به آریتمی قلبی و تاکی‌کاردی اشاره نمود [۲۰-۱۸]. از طرفی علیرغم مصرف گسترده اسانس بهارنارنج به‌عنوان ماده غذایی و دارویی و نیز وجود مواد بیولوژیک مختلف در آن، عوارض احتمالی آن تاکنون مورد مطالعه قرار نگرفته است. در برخی کتب طب سنتی نیز هشدارهایی مبنی بر عوارض سمیت کبدی بعد از استفاده از عرق بهارنارنج داده شده است اما تاکنون مطالعه علمی جهت بررسی اثرات مصرف اسانس و عرق بهارنارنج بر شاخص‌های سلامت کبدی یا سمیت آن گزارش نشده است. بنابراین هدف از انجام این مطالعه، بررسی سمیت کبدی غلظت‌های مختلف اسانس بهارنارنج در تجویز داخل‌صفاقی و خوراکی در مدل آزمایشگاهی موش صحرایی می‌باشد. جهت تعیین شاخص‌های سلامت کبدی به‌طور معمول، آزمون‌هایی جهت تعیین آلانین امینو ترانسفراز (ALT)، اسپارات امینو ترانسفراز (AST)، لاکتات دهیدروژناز (LDH)، گلوتاتیون (GSH) و گونه‌های واکنش‌پذیر تیوباربیتوریک اسید (TBARS) انجام می‌شود. لاکتات دهیدروژناز آنزیمی است از گروه اکسیدوردوکتازها که به‌طور وسیعی تقریباً در تمام سلول‌های زنده، از جمله گلبول‌قرمز، عضلات قلب و بافت کبدی یافت و به هنگام آسیب بافتی درون خون آزاد می‌شود. این ویژگی لاکتات دهیدروژناز، آن را به یک شاخص مهم برای شناسایی آسیب‌ها و بیماری‌های شایع در بدن تبدیل می‌کند. آسپارتات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز، آنزیم‌های داخل سلولی منتقل‌کننده گروه آمین هستند که در مقادیر بالایی در سلول‌های کبدی یافت می‌شوند و به‌دنبال آسیب یا مرگ سلول‌های کبدی، این آنزیم‌ها داخل خون آزاد می‌شوند که در سرم قابل اندازه‌گیری هستند [۲۱]. آلانین آمینو ترانسفراز، مسؤول انتقال گروه آمین آلانین به ۲-اکسوگلوتارات و تولید گلوتامات و پیروات می‌باشد. درنهایت پیروات در واکنش با NADH + H+، تولید NAD+ می‌کند. تغییر در نسبت NADH/NAD+ ارتباط مستقیمی با میزان فعالیت ALT دارد. GSH ترکیبی تیولی و غیرپروتئینی است که برای سم‌زدایی واسطه‌های فعال و طبیعت نوکلئوفیلی گروه سولفیدریل سیستئین در نظر گرفته شده، می‌تواند به الکتروفیل‌های بسیاری متصل شود و از آلکیلاسیون اجزای مهم در سلول جلوگیری کند. GSH به‌عنوان کوفاکتور برای GSH پراکسیداز و GSH ترانسفراز به‌کار می‌رود. سم‌زدایی هیدروپراکسیدهای اسیدهای چرب و هیدروژن پراکسید توسط این آنزیم‌ها صورت می‌گیرد که از GSH به‌عنوان کوفاکتور استفاده می‌کنند [۲۲]. گونه‌های واکنش‌پذیر تیوباربیتوریک اسید (TBARS) در اثر لیپید پرانسیداسیون ایجاد می‌شوند. از آن‌جایی‌که گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS) دارای نیمه‌عمر کوتاه هستند، اندازه‌گیری آن‌ها به‌طور مستقیم دشوار است. در عوض، می‌توان محصولات آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو مانند TBARs را اندازه‌گیری نمود [۲۳].

مواد و روش‌ها

کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در این مطالعه از شرکت مرک (آلمان) یا شرکت سیگما الدریچ (امریکا) تهیه شده‌اند.

استخراج اسانس بهارنارنج

ابتدا ۳ کیلوگرم شکوفه‌های بهارنارنج تازه از درختان نارنج شهرستان فیروزآباد در فصل بهار ۱۳۹۷ تهیه شد. شناسایی جنس و گونه گیاه توسط یک متخصص فارماکوگنوزی انجام شد و نمونه هرباریومی آن در هرباریوم مرکز تحقیقات فرآوری گیاهان دارویی به شماره MPPRCM-98-2 ثبت شد. شکوفه‌های بهارنارنج به‌مدت ۱۰ روز در دمای اتاق و دور از نور خورشید خشک شد. سپس گیاه خشک‌شده، آسیاب و با استفاده از کلونجر اسانس آن استخراج شد. اسانس، داخل ظرف شیشه‌ای ریخته شد و تا روز آزمایش در یخچال و دور از نور نگهداری شد. درصد

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-02]

استخراج اسانس از بهارنارنج ۹۳/۱ درصد وزنی - وزنی بود.

آنالیز اسانس

جهت آنالیز اسانس از دستگاه کروماتوگرافی گازی- جرمی مدل HEWELTT-PACKARD 6890 مجهز به ستون مویینه HP-5 استفاده شد. برنامه دمایی دستگاه به این ترتیب بود که دمای آون ابتدا روی ٦٠ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٤ دقیقه تنظیم شد، سپس با سرعت ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه دما تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و پس از آن با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تا دمای ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد افزوده شد و ۱۰ دقیقه در این دما قرار گرفت. هلیوم به‌عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. شناسایی ترکیبات موجود در اسانس بهارنارنج، با استفاده از الگوی شکست جرمی، زمان بازداری، شاخص کواتس و در مقایسه با کتابخانه Willey انجام گرفت [٢٤].

حیوانات آزمایشگاهی و شرایط نگهداری

مطالعه حاضر از نوع تجربی بوده و روی حیوان آزمایشگاهی رت انجام شده است. تعداد ٤٠ موش رت نر از نژاد اسپراگ دالی (با وزن حدود ۲۵۰-۱۸۰گرم) به‌صورت گروه‌های ۵ تایی (تعداد ۸ گروه) در قفس‌های استاندارد بر روی بستر خرده چوب نگهداری شدند و در تمام مدت آزمایش، موش‌ها در دوره نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی قرار داشتند. وزن موش‌ها در گروه‌های مختلف همگن بود و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت. درجه حرارت محیط ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. کلیه کدهای اخلاقی جهت کار با حیوان آزمایشگاهی رعایت شد. این طرح با کد IR.SUMS.REC.1398.177 در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شیراز مصوب شده است.

ارزیابی آسیب کبدی اسانس بهارنارنج در مدل حیوانی

اسانس به‌دست‌آمده از شکوفه‌های بهارنارنج در دوزهای (g/kg ۲ و ۱، ۰/۵) به مدت سه روز و یک‌بار در روز به روش داخل‌صفاقی به موش‌ها تزریق شد. همچنین به سه گروه از موش‌ها به روش مشابهی اسانس بهارنارنج به‌صورت خوراکی (گاواژ) و به‌مدت سه روز تجویز شد. جهت تهیه غلظت‌های مختلف اسانس (g/kg ۲ و ۱، ۰/۵)، از پایه روغن زیتون استفاده شد. در نهایت برای دو گروه کنترل نیز مقدار (g/kg ۱) به‌صورت داخل‌صفاقی یا خوراکی روغن زیتون تجویز شد. ٤٨ ساعت بعد از آخرین تجویز دارو نمونه‌گیری انجام شد. برای بیهوش کردن موش‌ها داروی تیوپنتال با دوز (٦٠ mg/kg) از طریق داخل‌صفاقی به موش‌ها تزریق شد و بعد از بیهوشی کامل، جراحی صورت گرفت. از آئورت شکمی به میزان ۵ میلی‌لیتر خون گرفته و با دقت به لوله‌ی آزمایش منتقل شد تا از لیز گلبول‌ها جلوگیری شود. خون گرفته‌شده در دمای اتاق لخته شده، سپس سرم با سانتریفوژ کردن نمونه‌ها (دور ۱۰۰۰، ۲۵ دقیقه) به دست آمد. سرم به‌دست‌آمده در دمای ۲۰- درجه برای انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری شد. پس از خون‌گیری، کلّ کبد جدا و به درون یک ظرف حاوی سدیم کلرید ۹/۰ درصد انتقال داده شد. بخشی از بافت کبد برای اندازه‌گیری میزان گلوتاتیون (GSH) و لیپید پراکسیداسیون پس از شستشو با نرمال‌سالین جدا شد و سپس بقیه‌ی بافت کبد در فرمالین قرار داده شد و برای بررسی اثرات هیستوپاتولوژیک مورد استفاده قرار گرفت.

روش اندازه‌گیری لیپید پراکسیداسیون در بافت

پس از جداسازی، کبد (۵۰۰ میلی‌گرم) همراه با محلول خنک‌شده پتاسیم کلرید ۱۵/۱ درصد، هموژنیزه شد و مخلوط هموژن حاوی ۱۰ درصد بافت کبدی به‌دست آمد. سپس به ۵/۰ میلی‌لیتر از این مخلوط هموژن، ۳ میلی‌لیتر محلول فسفریک اسید (۱ درصد) و ۱ میلی‌لیتر محلول تیوباربیتوریک اسید (٦/٠ درصد) اضافه و در دمای ۱۰۰ درجه و به مدت ٤٥ دقیقه، حرارت داده شد. سپس به مخلوط خنک‌شده، به میزان ٤ میلی‌لیتر اِن-بوتانول اضافه و خوب هم زده شد. بعد از سانتریفوژ کردن، میزان جذب فاز اِن-بوتانول در ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد و جهت تهیه منحنی استاندارد، غلظت‌های مختلف از ۳،۳،۱،۱-تترا اتوکسی پروپان در متانول ساخته شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از تیوباربیتوریک اسید به آن اضافه و پس از آن تیوب‌ها به‌مدت ٤٥ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد و جذب آن‌ها در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان لیپید پراکسیداسیون در بافت نمونه‌ها با توجه به منحنی استاندارد محاسبه گردید [۲۵].

اندازه‌گیری میزان گلوتاتیون (GSH)

جهت اندازه‌گیری میزان GSH در بافت، مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از بافت کبد موش در ۸ میلی‌لیتر مخلوط خنک‌شده‌ی EDTA (۰۲/۰ مولار)، هموژنه شد، سپس ۵ میلی‌لیتر از مخلوط با ٤ میلی‌لیتر آب و ۱ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۵۰ درصد(w/v)، مخلوط شد. مخلوط به‌دست‌آمده به‌مدت ۱۵ دقیقه و ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس مایع رویی با بافر تریس ٤/٠ مولار و ۵ و'۵-دی تیوبیس (۲-نیترو بنزوییک اسید (۱/۰ مولار) مخلوط و جذب آن در ٤١٢ نانومتر خوانده شد [٢٤]. جهت تهیه منحنی استاندارد، غلظت‌های مختلفی از GSH در بافر تریس آماده و به هر کدام از تیوب‌ها ۰/۱ میلی‌لیتر DTNB اضافه و جذب در طول موج ٤١٢ نانومتر خوانده شد [٢٦].

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-02]

اندازه‌گیری مارکرهای بیوشیمیایی سرم

میـزان مارکرهـای بیوشـیمیایی سـرم (ALT، AST، و LDH) به‌وسیله‌ی کیت تجاری شرکت پـارس آزمـون (ایـران) و دستگاه اتوآنالایزر اندازه‌گیری شد.

آزمایشات هیستوپاتولوژیک

نمونه‌ها پس از جدا شدن و شستشو توسط سدیم کلریـد (۰/۹ درصد)، در ظرف حاوی فرمالین (۱۰ درصد) فیکس شـدند. پس از مراحل آماده‌سازی و تهیه‌ی بلوک‌های پارافینی، مقاطعی بـه ضخامت ۵ میکرون تهیه و به روش هماتوکسیلین–ائـوزین (H & E) رنگ‌آمیزی شدند. اسلایدها پس از لامل‌گذاری مـورد مطالعـه میکروسکوپی قرار گرفتند. جهت بررسی عوارض ناشی از سـمیت کبدی داروهای مورد مطالعه، موارد نکروز سلول‌های کبد، نکـروز در ناحیه‌ی مرکز لوبولی، خونریزی، به هم خوردن ساختمان طبیعی سینوزوئید و ارتشاح فوکال سلول‌های التهابی مورد بررسـی قـرار گرفتند و درجه‌بندی شدند [۲۷].

محاسبات آماری

داده‌های مربـوط بـه ALT ، AST، LDH، TBARs و GSH توسـط آزمـون Multivariate analysis of variance (MANOVA) مورد بررسی قرار گرفتند. سایر داده‌ها بـه‌وسـیله آنالیز واریانس(ANOVA) یـک‌طرفـه و سـپس تسـت مقایسـه چندگانه Tukey تجزیه و تحلیل آماری شـدند. میـزان $P\leq$۰/۰۵ به‌عنوان اختلاف قابل ملاحظه در نظر گرفته شد.

نتایج

ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس بهارنارنج

نتایج حاصل از آنالیز کروماتوگرافی گازی- جرمی

نتایج حاصل از آنالیز کروماتوگرافی گـازی- جرمـی در جدول شماره ۱ خلاصه شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده اسانس شامل لینالیل استات، تـرپینن-٤-ال، لینالول و فنتیل الکل می‌باشند.

اثر اسانس بهارنارنج بر شاخص‌های سلامت کبدی

داده‌های مربوط بـه ALT ، AST، LDH، TBARs و GSH توسـط آزمـون Multivariate analysis of variance (MANOVA) مورد بررسی قرار گرفتند. بـا اسـتفاده از آزمـون MANOVA شـاخص Wilks' Lambda برابـر بـا ۰/۰۰۱ و مقدار شاخص F(۵۷/٤٤،۱۵)= ۷۳/۳۳ بود. بنابراین بین گروه‌هـای مختلف از این نظر تفاوت معنی‌داری وجـود داشـت ($P\leq$۰/۰۰۱). سپس تست مقایسه چندگانه Tukey جهت مقایسه هـر گـروه بـا گروه‌های دیگر مورد استفاده قرار گرفت که نتایج بـه شـرح زیـر می‌باشد.

اثر اسانس بهارنارنج بر لاکتات دهیدروژناز (LDH)

همان‌گونه که در شکل شماره ۱ مشاهده می‌شود، تجـویز داخل‌صفاقی اسانس بهارنارنج تنها در دوز بـالا (۲ g/kg) باعـث افزایش میزان LDH شد ($P\leq$۰۰۱/۰). اما در دوزهـای پـایین‌تـر اگرچه تا حدودی باعث افزایش میزان LDH گردید، اما این اثر از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P\leq$۰/۰۵). همچنین مصرف خوراکی این اسانس در دوزهای داده‌شده تغییر معنی‌داری در این شاخص ایجاد نکرد.

اثر اسانس بهارنارنج بر ALT و AST

همان‌گونه که در شکل شماره ۲ مشاهده می‌شود، تجـویز داخل‌صفاقی اسانس بهارنارنج تنها در دوز بـالا (۲ g/kg) باعـث افـزایش میـزان شـاخص‌هـای ALT ($P\leq$۰/۰۵) وAST ($P\leq$۰/۰۰۱) شد. اما در دوزهای پایین‌تر اگرچه تا حدودی باعـث افزایش میزان AST گردید، اما این اثر از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P\leq$۰/۰۵). همچنین مصرف خـوراکی ایـن اسـانس در دوزهـای داده‌شده تغییر معنی‌داری در این شاخص ایجاد ننمود (داده‌ها نشان داده نشده است).

اثر اسانس بهارنارنج بر GSH و TBARs

همان‌گونه که در شکل شماره ۳ مشاهده می‌شود، تجـویز داخل‌صفاقی اسانس بهارنارنج در تمام دوزها باعث افزایش میـزان شاخص TBARs گردید. اگرچه این میزان افزایش از نظر آمـاری معنی‌دار نبود ($P\leq$۰/۰۵). این اسانس تغییر معنـی‌داری بـر میـزان GSH ایجاد ننمود. همچنین مصـرف خـوراکی ایـن اسـانس در هیچ‌یک از دوزهای داده‌شده تفاوت معنـی‌داری بـا گـروه کنتـرل نداشت (داده‌ها نشان داده نشده است).

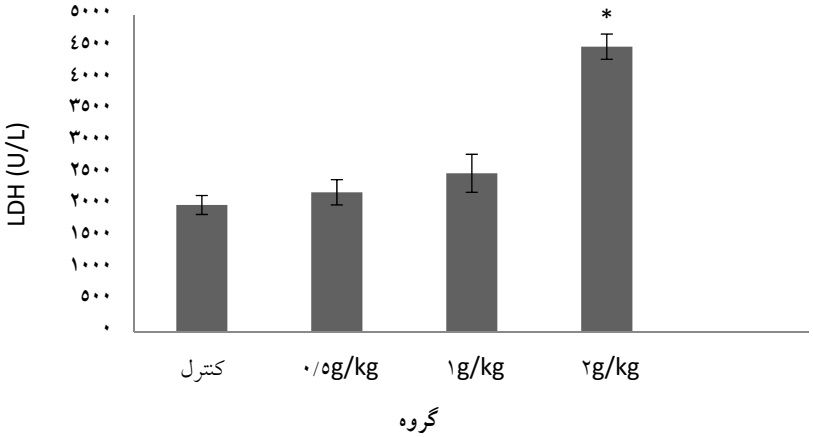
بررسی پاتولوژی آسیب کبدی ناشی از اسانس بهارنارنج

پس از ارسال نمونه‌های کبـد بـه آزمایشـگاه پـاتولوژی، نمونه‌ها از نظر واکنش‌های التهابی، نکروز، خونریزی، احتقان بافتی و دژنراسیون (تباهی یا تغییر آسیب‌شناختی پس‌رونده در سلول یـا بافت) مورد بررسی قرار گرفتند که نتایج حاکی از ایـن بـود کـه اسانس بهارنـارنج هـم بـا مصـرف خـوراکی و هـم در مصـرف داخل‌صفاقی در غلظت‌های بالاتر از (۱ g/kg) باعث ایجاد التهاب در بافت کبدی می‌شود. همچنـین در مصـرف خـوراکی اسـانس بهارنارنج در دوز بالا (۲ g/kg) احتقان بافتی مشاهده شد. پدیـده دژنرسانس آبکی در همه موارد تجویز مشاهده گردید که در تجویز خوراکی شدت آن کمتر بود (شکل شماره ٤).

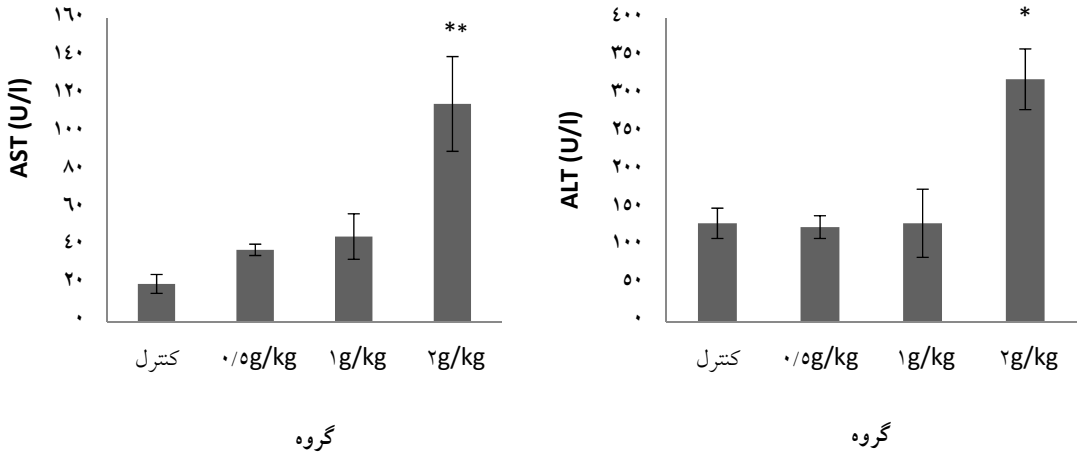
[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-02]

جدول شماره ۱- ترکیبات شناسایی‌شده از اسانس بهارنارنج با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی-جرمی

ردیف	نام ترکیب شیمیایی	درصد (وزنی/ وزنی) ترکیبات شیمیایی	شاخص کواتس
۱	لینالیل استات	۵۳/۴۷	۱۲۶۰
۲	ترپینن- ٤- ال	۰۲/۲۱	۱۱۷٤
۳	لینالول	۹۹/۱٦	۱۰۹۹
٤	فنتیل الکل	۹۱/۵	۱۱۱۵
۵	هگزان	٦۳/۱	٦۰۳
٦	ژرانیل استات	٤۱/۱	۱۳۹۰
۷	نریل استات	۸۱/۰	۱۳۹۷
۸	میرسن	۵۵/۰	۹۹۰
۹	لیمونن	۳۲/۰	۱۰۲۵
۱۰	ترانس-بتا-اسیمن	۳۷/۰	۱۰٤٦
	نامشخص	٤٦/۰	

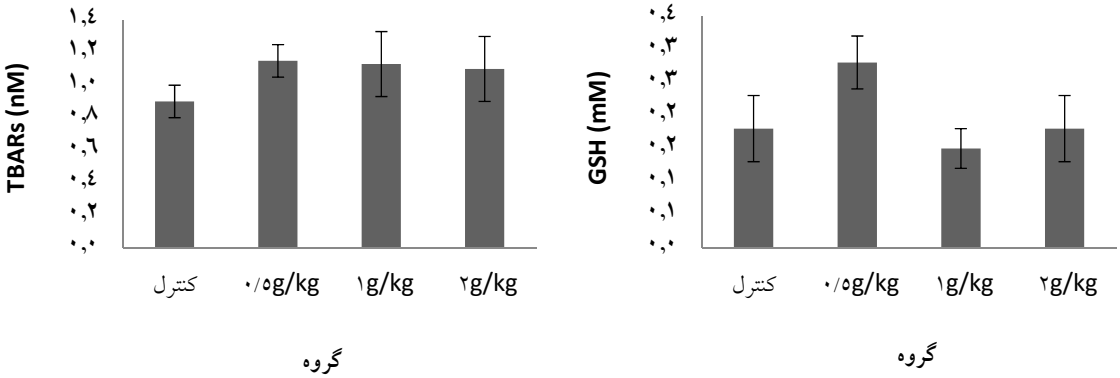


شکل شماره ۱- تأثیر تجویز اسانس بهارنارنج بر میزان LDH سرم در موش صحرایی نر. داده‌ها برای حداقل ۵ موش در هر گروه و به‌صورت $\overline{X} \pm SD$ نشان داده شده‌اند. اسانس به‌صورت داخل‌صفاقی با دوز ۰/۵، ۱ و ۲ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش روزانه و به‌مدت ۳ روز متوالی تجویز شد. آزمایش ٤۸ ساعت پس از تجویز آخرین دوز اسانس به موش‌ها انجام شده است.*نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل است. ($P\leq$۰/۰۰۱).

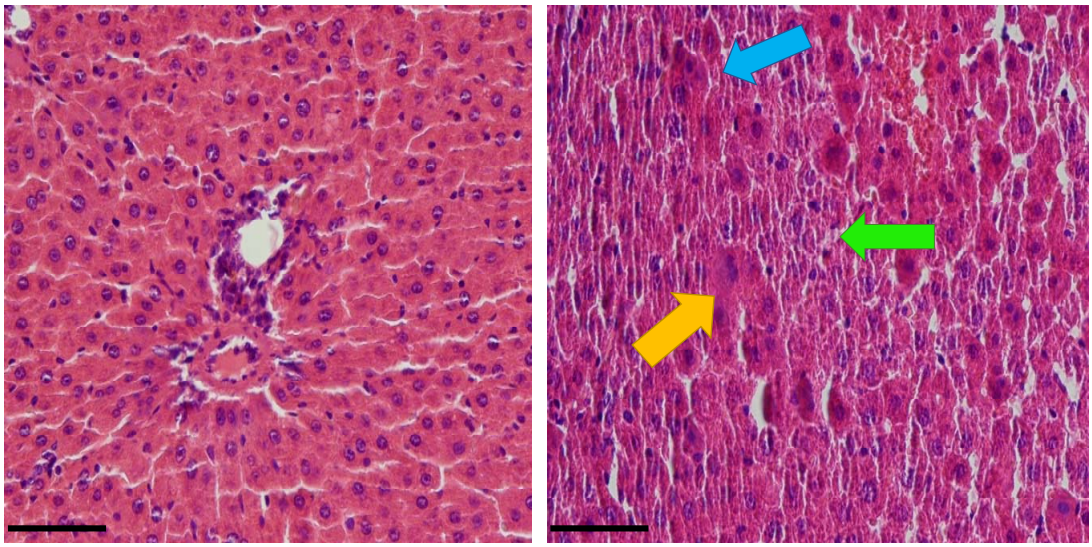


شکل شماره ۲- تأثیر تجویز اسانس بهارنارنج بر میزان ALT (سمت چپ) و AST (سمت راست) سرم در موش صحرایی نر. داده‌ها برای حداقل ۵ موش در هر گروه و به‌صورت $\overline{X} \pm SD$ نشان داده شده‌اند. اسانس به‌صورت داخل‌صفاقی با دوز ۰/۵، ۱ و ۲ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش روزانه و به مدت ۳ روز متوالی تجویز شد. آزمایش ٤۸ ساعت پس از تجویز آخرین دوز اسانس به موش‌ها انجام شده است. *نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل است ($P\leq$۰/۰۵). **نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل است ($P\leq$۰/۰۰۱).

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-02]



شکل شماره ۳- تأثیر تجویز اسانس بهارنارنج بر میزان GSH (سمت چپ) و TBARs (سمت راست) سرم در موش صحرایی نر. داده‌ها برای حداقل ۵ موش در هر گروه و به‌صورت $\overline{X} \pm SD$ نشان داده شده‌اند.



شکل شماره ٤- یافته‌های هیستوپاتولوژی بافت کبد در گروه دریافت‌کننده اسانس بهارنارنج (سمت راست) و گروه کنترل سالم (سمت چپ). فلش سبز: نکروز، فلش زرد: خونریزی و احتقان بافتی، فلش آبی: دژنراسیون.
Scale bar: ۱۰۰ µm. (×٤۰۰)

بحث

در مطالعه حاضر، ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده اسانس بهارنارنج شامل لینالیل استات، ترپینن-٤-ال و لینالول بود. در مطالعه قبلی، Jiang و همکاران ترکیب اصلی بهارنارنج را ترپینن-٤-ال گزارش نمودند [۷]. به علاوه در مطالعه دیگری که توسط خدابخش و همکاران انجام شده استف لینالول و لینالیل استات به‌عنوان ترکیبات اصلی بهارنارنج گزارش شده‌اند [۲۸]. نتایج حاصل از مطالعه حاضر با گزارشات قبلی ارائه‌شده توسط محققان بر روی ترکیبات اسانس بهارنارنج تطابق دارد. اگرچه مقدار درصد این ترکیبات در گزارش‌های قبلی با مطالعه حاضر متفاوت می‌باشد که این امر می‌تواند به‌دلیل تفاوت در روش‌های اسانس‌گیری [۲۹] و نیز تفاوت در شرایط جغرافیایی مناطق مختلف رویش این گیاه باشد. مطالعه حاضر از نوع تجربی بوده و روی حیوان آزمایشگاهی رت انجام شده است. در این تحقیق برای بررسی آسیب کبدی، هر ۳ آنزیم نشان‌دهنده آسیب کبدی یعنی AST، ALT و LDH مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در دوزهای بالا این اسانس دارای سمیت خفیف کبدی بوده است که داده‌های هیستوپاتولوژی نیز تأییدکننده‌ی این مطلب می‌باشد. بررسی میزان گلوتاتیون بافتی و میزان استرس اکسیداتیو در بافت کبد نشان داد که این عوارض ناشی از استرس اکسیداتیو نبوده، احتمالاً از طریق سمیت مستقیم و غیراکسیداتیو عمل می‌کند. تاکنون مطالعه‌ای جهت بررسی اثر مصرف اسانس بهارنارنج بر شاخص‌های سلامت کبدی گزارش نشده است. بنابراین امکان مقایسه نتایج مطالعه حاضر با سایر مطالعات وجود ندارد. اما در یک مطالعه که در سال ۲۰۰۳ انجام شده است، میزان LD_{50} برای مصرف خوراکی لینالیل استات (۱٤٥٥۰ mg/kg) و برای مصرف داخل‌صفاقی (mg/kg

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-02]

۲۹۸٤-۲۷۷۸) بود [۳۰]. از آنجا که میزان ترکیب لینالیل استات در اسانس بهارنارنج مورد استفاده در این مطالعه ۵۳/٤۷ درصد بود، این امر حاکی از احتمال بروز سمیت در مقادیر مصرف روزانه اسانس بهارنارنج به‌عنوان چاشنی یا در عرقیجات است. این نتایج با نتایج مشاهده‌شده در مطالعه حاضر در عدم بروز سمیت کبدی در مصرف خوراکی اسانس بهارنارنج هماهنگ می‌باشد. همچنین در مطالعات قبلی گزارش شده است که تزریق داخل‌صفاقی لینالیل استات در دوزهای (mg/kg ۵۰۰۰-۱٦۰۰) به مدل موش صحرایی باعث ایجاد آسیب‌های کبدی شامل تغییر رنگ بافت کبد و ضخیم شدن لوب‌های کبدی شد [۳۰]. اگرچه دوز مصرف‌شده در مطالعه حاضر کمتر از دوز گزارش‌شده توسط Letizia و همکاران می‌باشد، اما هر دو مطالعه حاکی از احتمال بروز آسیب‌های کبدی در صورت مصرف مقادیر بالای اسانس‌های گیاهی حاوی ترکیب لینالیل استات است. از جمله ترکیبات دیگری که در اسانس بهارنارنج شناسایی شد، ترکیب لیمونن بود. اگرچه این ترکیب جزو ترکیبات شاخص این اسانس نیست، اما در مطالعات قبلی گزارش شده است که غلظت‌های بالای لینالول (۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز و به‌مدت سی روز) سبب بروز آسیب پارانشیم کبدی و ماتریکس کبد شامل زخم‌های کبدی، بزرگ شدن سلول‌های کوپفر و فیبروز می‌شود [۳۱]. این گزارشات مؤید نتایج به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر نیز هست. از طرفی برخی مقالات حاکی از اثرات محافظت کبدی لینالول (از جمله ترکیبات اصلی اسانس بهارنارنج) در برابر سمیت ناشی از lipopolysaccharide/D-galactosamine می‌باشد [۳۲]. در پژوهشی دیگر که روی القای آنزیم‌های کبدی توسط لینالول و سیترال انجام شد، لینالول سبب القای تکثیر پراکسی‌زوم‌ها و افزایش سطح سیتوکروم P_{450} در کبد شد. در این مطالعه غلظت‌های (mg/kg ۵۰۰) لینالول باعث افزایش در وزن کبد شد [۳۳]. ترکیب شاخص دیگر موجود در اسانس بهارنارنج در مطالعه حاضر ترپینن-٤- ال بود. برخی مطالعات قبلی نشان داده‌اند که این ترکیب در کبد انسان توسط آنزیم‌های میکروزومال P_{450} به‌ویژه آنزیم‌های CYP2A6 و CYP3A4 اکسید و متابولیزه می‌شود [۳٤،۳۵]. در مطالعه انجام‌شده توسط Nöldner و همکاران میزان فراهمی زیستی ترکیبات لینالول و لینالیل استات (دو ترکیب شاخص اسانس بهارنارنج) و توزیع این دو ترکیب در اندام‌های مختلف موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه آن‌ها مشخص شد که هر دو ترکیب لینالول و لینالیل استات تمایل زیادی به تجمع در بافت کبد، کلیه و بافت‌های چربی دارند. اما از طرفی لینالیل استات به سرعت در بدن حیوان متابولیزه و به ترکیب لینالول تبدیل می‌شود که تمایل بیشتری به تجمع در بافت مغز و بافت‌های چربی دارد [۳٦]. در مجموع به‌نظر می‌رسد که ترکیبات شاخص اسانس بهارنارنج تمایل به تجمع در کبد دارند و یا متابولیسم آن‌ها وابسته به آنزیم‌های کبدی می‌باشد. بنابراین در مطالعه حاضر، اثر سمیت احتمالی اسانس بهارنارنج تنها در بافت کبد مورد بررسی قرار گرفت و سمیت احتمالی این اسانس بر سایر اندام‌ها مانند بافت مغز یا کلیه ارزیابی نشد که اگرچه این امر جزو اهداف مطالعه حاضر نبود، اما بررسی اثرات سمیت احتمالی این اسانس و ترکیبات شاخص آن مانند لینالیل استات، ترپینن-٤- اول و لینالول بر سایر اندام‌ها به‌ویژه کلیه و مغز در مطالعات آینده در جهت اطمینان از مصرف فرآورده‌های اسانس بهارنارنج، می‌تواند سودمند باشد. همچنین از آنجا که مطالعه حاضر یک مطالعه حیوانی می‌باشد، ممکن است نتایج به‌دست‌آمده از آن به‌طور کامل روی انسان صادق نباشد، اگرچه هشدارهایی در رابطه با مصرف آن در بیماران مبتلا به مشکلات کبدی ارائه می‌کند. بنابراین قبل از بسط نتایج مطالعه حاضر به انسان، انجام مطالعات بیشتر جهت بررسی اثرات مصرف محصولات حاوی اسانس بهارنارنج مانند عرقیات و شربت‌های حاوی این اسانس بر شاخص‌های سلامت کبدی روی افراد داوطلب سالم ضروری به‌نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر بخشی از پایان‌نامه دکترای عمومی داروسازی خانم مهسا دانا (یکی از نویسندگان مقاله حاضر) می‌باشد و توسط گروه پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شیراز به شماره ۱۸۹۸٤-۷۰-۰۱-۹۷ حمایت شده است. این طرح با کد IR.SUMS.REC.1398.177 در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شیراز مصوب گردیده است.

References:

[1] Tripoli E, La Guardia M, Giammanco S, Di Majo D. Giammanco M. Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review. ***Food Chem*** 2007;104(2): 466-79.

[2] Suryawanshi JAS. An overview of *Citrus aurantium* used in treatment of various diseases. ***Afr J Plant Sci*** 2011; 5(7): 390-5.

[3] Khorasani MA. Makhzan al Advieh. Tehran, Iran: Bavardaran Press Research institute for

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-02]

Islamic and Complementary Medicine, Iran University of Medical Sciences. 2001 .p.
[4] Aghili Shirazi S. Qarabadin-e-Kabir. Tehran, Iran: Ostad Allah Qoli Khan Qajar. 1855. p.134.
[5] Lopes CL, Gonçalves C, Almeida A, Pereira CJ, Costa MT, Mendes FC, et al. Sedative, anxiolytic and antidepressant activities of *Citrus limon* (Burn) essential oil in mice. ***Die Pharmazie- Int J Pharm Sci*** 2011; 66(8): 623-7.
[6] Mosaddegh M, Kamalinejad M, Dehmaoobad Sharifabadi A, Esfahani, B. Composition of the volatile oils of the *Citrus bigaradia*, *Citrus limon* and *Citrus deliciosa*. ***J Med Plant*** 2004: 11(3): 25-30.
[7] Jiang MH, Yang L, ZhuL, Piao JH, Jiang JG. Comparative GC/MS analysis of essential oils extracted by 3 methods from the bud of *Citrus aurantium* L. var. amara. ***Engl J Food Sci*** 2011; 76(9): 1219-25.
[8] Moulehi I, Bourgou S, Ourghemmi I, Tounsi MS. Variety and ripening impact on phenolic composition and antioxidant activity of mandarin (*Citrus reticulate* Blanco) and bitter orange (*Citrus aurantium* L.) seeds extracts. ***Ind Crop Prod*** 2012; 1(39): 74-80.
[9] Hansen, DK, George NI, White GE, Abdel-Rahman A, Pellicore L, Fabricant D. Cardiovascular toxicity of *Citrus aurantium* in exercised rats. ***Cardiovasc Toxicol*** 2013; 13(3): 208-19.
[10] Liu L, Shan S, Zhang K, Ning ZQ, Lu XP, Cheng YY. Naringenin and hesperetin, two flavonoids derived from *Citrus aurantium* upregulate transcription of adiponectin. ***Phytother Res*** 2008; 22(10): 1400-3.
[11] Kim GS, Park HJ, Woo JH, Kim MK, Koh PO, Min W, et al. *Citrus aurantium* flavonoids inhibit adipogenesis through the Akt signaling pathway in 3T3-L1 cells. ***BMC Complement Altern Med*** 2012; 12(31): 1-10.
[12] Lee DH, Park KI, Park HS, Kang SR, Nagappan A, Kim JA, et al. Flavonoids isolated from Korea *Citrus aurantium* L. induce G2/M phase arrest and apoptosis in human gastric cancer AGS cells. ***Evid Based Complement Alternat Med*** 2012; 2012(1): 1-11.
[13] Kang SR, Park KI, Park HS, Lee DH, Kim JA, Nagappan A, et al. Anti-inflammatory effect of flavonoids isolated from Korea *Citrus aurantium* L. on lipopolysaccharide-induced mouse macrophage RAW 264.7 cells by blocking of nuclear factor-kappa B (NF-κB) and mitogen-activated protein kinase (MAPK) signalling pathways. ***Food Chem*** 2011; 129(4): 1721-8.
[14] Karimi E, Oskoueian E, Hendra R, Oskoueian A, Jaafar HZ. Phenolic compounds characterization and biological activities of *Citrus aurantium* bloom. ***Molecules*** 2012; 17(2): 1203-18.
[15] Fukumoto S, Morishita A, Furutachi K, Terashima T, Nakayama T, Yokogoshi H. Effect of flavour components in lemon essential oil on physical or psychological stress. ***Stress Health*** 2008; 24(1): 3-12.
[16] Carvalho-Freitas MIR, Costa M. Anxiolytic and sedative effects of extracts and essential oil from *Citrus aurantium* L. ***Biol Pharm Bull*** 2002; 25(12): 1629-33.
[17] Costa CA, Cury TC, Cassettari BO, Takahira RK, Flório JC, Costa M. *Citrus aurantium* L. essential oil exhibits anxiolytic-like activity mediated by 5-HT 1A-receptors and reduces cholesterol after repeated oral treatment. ***BMC Complement Altern Med*** 2013; 13(42): 1-10.
[18] Calapai G, Firenzuoli F, Saitta A, Squadrito F, Arlotta MR, Costantino G, et al. Antiobesity and cardiovascular toxic effects of *Citrus aurantium* extracts in the rat: a preliminary report. ***Fitoterapia*** 1999; 70(6): 586-92.
[19] Stohs SJ. Assessment of the adverse event reports associated with *Citrus aurantium* (bitter orange) from April 2004 to October 2009. ***J Funct Food*** 2010; 2(4): 235-8.
[20] Louw VJ, Louw H. *Citrus aurantium*-beware of the bitter orange. ***SAMJ S Afr Med J*** 2008; 98(7): 496-6.
[21] Chien K, Peau R, Farber J. Ischemic myocardial cell injury. Prevention by chlorpromazine of an accelerated phospholipid degradation and associated membrane dysfunction. ***Am J Pathol*** 1979; 97(3): 505-25.
[22] Arteel GE, Sies H. The biochemistry of selenium and the glutathione system. ***Environ Toxicol Pharmacol*** 2001; 10(4): 153-8.
[23] Alfa HH, Arroo RR. Over 3 decades of research on dietary flavonoid antioxidants and cancer prevention: What have we achieved?. ***Phytochem Rev*** 2019: 19(1):1-6.
[24] Mojab F, Hamedi A, Nickavar B, Javidnia K. Hydrodistilled volatile constituents of the leaves of *Daucus carota* L. subsp. sativus (Hoffman.) Arcang. (Apiaceae) from Iran. ***J Essent Oil Bearing Pl*** 2008; 11(3): 271-7.
[25] Heidari R, Ghanbarinejad V, Mohammadi H, Ahmadi A, Esfandiari A, Azarpira N, et al. Dithiothreitol supplementation mitigates hepatic and renal injury in bile duct ligated mice: Potential application in the treatment of cholestasis-associated complications. ***Biomed Pharmacother*** 2018; 99(1): 1022-32.
[26] Heidari R, Taheri V, Rahimi HR, Yeganeh BS, Niknahad H, Najibi A. Sulfasalazine-induced renal injury in rats and the protective role of thiol-reductants. ***Renal Failure*** 2016; 38(1): 137-41.
[27] Heidari R, Moezi L, Asadi B, Ommati MM, Azarpira N. Hepatoprotective effect of boldine in a bile duct ligated rat model of cholestasis/cirrhosis. ***Pharma Nutr*** 2017; 5(3): 109-17.
[28] Khodabakhsh P, Shafaroodi H, Asgarpanah J. Analgesic and anti-inflammatory activities of *Citrus aurantium* L. blossoms essential oil (neroli):

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-02]

involvement of the nitric oxide/cyclic-guanosine monophosphate pathway. ***J Nat Med*** 2015; 69(3): 324-31.
[29] Najafian S, Rowshan V. Comparative of HS SPME and HD techniques in *Citrus aurantium* L. ***Int J Med Arom Plants*** 2012; 2(1): 488-94.
[30] Letizia C, Cocchiara J, Lalko J, Api A. Fragrance material review on linalyl acetate. ***Food Chem Toxicol*** 2003; 41(7): 965-76.
[31] Ramos CA, Sá RD, Alves MF, Benedito RB, Sousa DP, Margareth de Fátima FM, et al. Histopathological and biochemical assessment of d-limonene-induced liver injury in rats. ***Toxicol Rep*** 2015; 1(2): 482-8.
[32] Li J, Zhang X, Huang H. Protective effect of linalool against lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced liver injury in mice. ***Int Immunopharmacol*** 2014; 23(2): 523-9.
[33] Roffey SJ, Walker R, and Gibson G. Hepatic peroxisomal and microsomal enzyme induction by citral and linalool in rats. ***Food Chem Toxicol*** 1990; 28(6): 403-8.
[34] Miyazawa M, Haigou R. Determination of cytochrome P_{450} enzymes involved in the metabolism of (−)-terpinen-4-ol by human liver microsomes. ***Xenobiotica*** 2011; 41(12): 1056-62.
[35] Haigou R, Miyazawa M. Metabolism of (+)-Terpinen-4-ol by cytochrome P_{450} enzymes in human liver microsomes. ***J Oleo Sci*** 2012; 61(1): 35-43.
[36] Nöldner M, Germer S, Koch E. Pharmacokinetics of linalool and linalyl acetate, the two main constituents of silexan, an essential oil from *Lavandula angustifolia* flowers, in rats. ***Planta Med*** 2011; 77(12): 1410-10.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-02]