

**POTENSI KEMOPREVENTIF EKSTRAK ETANOLIK KULIT JERUK KEPROK (*Citrus reticulata*)  
PADA KARSINOGENESIS SEL HEPAR TIKUS  
GALUR SPRAGUE DAWLEY TERINDUKSI DMBA**

**CHEMOPREVENTIF POTENCY OF ETHANOLIC EXTRACT OF *Citrus reticulata* ON DMBA  
INDUCED RAT LIVER CELL CARCINOGENESIS**

**Edy Meiyanto\*, Diah Ayu Putri K.W, Perdana Adhi N, Andita Pra Darma, Muthi Ikawati**

Cancer Chemoprevention Research Center  
Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta  
meiyan\_e@ugm.ac.id

**ABSTRAK**

Salah satu titik tangkap strategi penemuan agen kemopreventif kanker khususnya kanker hepar adalah melalui penghambatan proliferasi dan penekanan ekspresi onkogen *c-Myc*. Tangeretin, nobiletin, dan hesperidin adalah beberapa senyawa aktif dari kulit jeruk keprok (*Citrus reticulata*) dilaporkan memiliki efek antiproliferatif pada berbagai sel kanker secara *in vitro*. Hasil penelitian ini dapat bermanfaat untuk mengetahui efek ekstrak etanolik kulit *C. reticulata* terhadap proliferasi dan penekanan ekspresi *c-Myc* pada sel hepar tikus betina galur Sprague Dawley berumur 40 hari terinduksi 7,12 Dimetilbenz[*a*]antrasen (DMBA). Tikus dikelompokkan menjadi lima kelompok: (a) DMBA, tikus diinduksi DMBA secara peroral (*p.o.*), dengan dosis 20 mg/kgBB dalam minyak jagung, sebanyak 10 kali selama lima minggu (b) kontrol pelarut CMC-Na, (c) kontrol ekstrak dosis 1500 mg/KgBB, (d) DMBA+ekstrak 750 mg/kgBB, dan (e) DMBA+ekstrak 1500 mg/kgBB. Ekstrak dilarutkan dengan CMC-Na 0,5% dan diberikan setiap hari, dimulai minggu kelima setelah pemberian DMBA. Tikus dikorbankan saat awal minggu kesepuluh setelah pemberian DMBA. Organ hepar diisolasi dan diawetkan dengan buffer formalin untuk analisis proliferasi dan imunohistokimia *c-Myc*. Analisis antiproliferasi dilakukan dengan metode AgNOR dan hasil menunjukkan bahwa ekstrak etanolik kulit *C. reticulata* dosis 750 mg/KgBB memiliki potensi tinggi dalam menghambat proliferasi dan menekan ekspresi onkogen *c-Myc*. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanolik kulit *Citrus reticulata* dapat menghambat proliferasi pada sel hepar tikus akibat pemberian DMBA melalui efek antiproliferasi dan penekanan ekspresi *c-Myc*.

**Kata kunci:** *Citrus reticulata*, antiproliferatif, DMBA, AgNOR, *c-Myc*.

**ABSTRACT**

One of the strategies in the discovery of the cancer chemoprevention agent especially the liver cancer is inhibition of proliferation and suppression of the expression of *c-Myc* oncogene. Tangeretin, nobiletin and hesperidin are some active compounds from tangerine (*Citrus reticulata*) peel that has been reported their anti-proliferative effect on various cancer cells *in vitro*. The study can be useful for determining the effects of ethanolic extract of *C. reticulata* peel on proliferation and suppression of *c-Myc* expression in the liver cells of strains of Sprague Dawley female rat induced 7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene (DMBA). Rats aged 40 days divided into 5 groups: (a) DMBA, DMBA-induced rat at a dose of 20 mg/KgBW in corn oil given 10 times in 5 weeks per oral, (b) control of the CMC-Na solvent, (c) control of the extract at a dose of 1500 mg/KgBW, (d) DMBA with the extract at a dose of 750 mg/KgBW and DMBA with the extract at a dose of 1500 mg/KgBW. The extract that dissolved in CMC-Na 0.5% administered daily, started in the fifth week after DMBA was given and at the beginning of the tenth week, the rats were sacrificed. Liver was isolated and preserved using buffered formalin for proliferation and immuno-histochemical analysis of *c-Myc*. The analysis was conducted by AgNOR method. The results showed that ethanolic extract of *C. reticulata* peel at a dose of 750 mg/KgBW has higher potency to inhibit proliferation of DMBA-induced liver cells and to suppress the expression of *c-Myc* oncogene than other dose level. This result indicated that the ethanolic extract of *C. reticulata* peel can inhibit proliferation cell in rat liver induced by DMBA by antiproliferation effects and suppression of *c-Myc* expression.

**Keyword:** *Citrus reticulata*, antiproliferatif, DMBA, AgNOR, *c-Myc*.

## PENDAHULUAN

Penemuan ekstrak etanolik kulit jeruk keprok (*C. reticulata*) sebagai agen kemopreventif menarik untuk dikaji. Tanaman jeruk banyak mengandung senyawa flavonoid diantaranya hesperidin, naringin dan flavonoid polimetoksi seperti tangeretin dan nobliten (Nogata *et al.*, 2006). Senyawa flavonoid telah banyak diteliti manfaatnya untuk peningkatan kesehatan dan pencegahan penyakit kanker (Moriguchi *et al.*, 2003). Dengan demikian kulit jeruk keprok dapat digunakan sebagai agen kemopreventif pada sel kanker hepar.

Proses perkembangan sel kanker terdiri dari 4 tahap, yaitu inisiasi, promosi, progresif dan metastasis, hal tersebut dapat terjadi karena adanya paparan zat karsinogenik seperti DMBA. DMBA merupakan senyawa karsinogen yang dapat membentuk metabolit reaktif dan menyebabkan *DNA adduct* pada sel hepar (Izzotti *et al.*, 1999). *DNA adduct* akan memacu terjadinya mutasi genetik dan abnormalitas gen. Selanjutnya dapat menyebabkan terjadinya perubahan fisiologi seluler. Overekspresi onkogen N-ras dan c-Myc oleh senyawa karsinogen merupakan abnormalitas genetik yang sering terjadi pada kanker hepar (Kawajiri, 1993). Aktivasi melalui enzim tersebut dapat dihambat oleh senyawa-senyawa flavonoid seperti flavone, hidroksiflavon dan galangin (Zhai *et al.*, 1998). Oleh karena itu, senyawa flavonoid diperkirakan dapat menghambat overekspresi N-ras dan c-Myc sehingga tingkat proliferasi sel dapat diturunkan.

Penelitian mengenai kandungan flavonoid dalam kulit jeruk keprok menunjukkan kemajuan yang positif sebagai sumber bahan penghambat pertumbuhan sel kanker. Suatu hasil penelitian menyatakan bahwa ekstrak kulit jeruk keprok mempunyai efek antiproliferatif dan dapat menginduksi apoptosis pada sel kanker lambung manusia (Kim *et al.*, 2005). Hasil tersebut menunjukkan bahwa di dalam kulit jeruk keprok terdapat senyawa flavonoid yang berkhasiat dalam pencegahan penyakit kanker.

Penelitian ini bertujuan membuktikan khasiat kulit jeruk keprok sebagai agen kemopreventif yang berperan dalam pencegahan penyakit kanker melalui uji efeknya terhadap penghambatan proliferasi dan penekanan ekspresi c-Myc. Hasil penelitian ini dapat dijadikan landasan mengenai penggunaan kulit jeruk keprok sebagai alternatif pencegahan penyakit kanker hepar.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Bahan Tanaman dan Preparasi Ekstrak

Jeruk keprok (*C. reticulata*) diperoleh pada bulan Maret tahun 2008 dari Kali Soro, Tawangmangu, Jawa Tengah dan telah dideterminasi di Laboratorium Farmakognosi Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM.

Sebanyak 494 gram serbuk dimaserasi dengan etanol 96%. Fraksi etanol yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

### Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) betina galur *Sprague Dawley* yang berumur 40 hari dengan berat badan 70-92 gram yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan, Universitas Gadjah Mada.

### Bahan Kimia

7,12-dimetilbenz[a]antrazena/DMBA (Sigma Chem. CO, St. Louis, MO) untuk induksi kanker, *corn oil* sebagai pelarut DMBA, aquadest (Asia Lab), CMC-Na, reagen AgNOR sebagai pewarna pengecatan histopatologi, etanol 96% (Merck, Darmstadt), *buffer* formalin 10% (Asia Lab, Yogyakarta) sebagai larutan fiksasi organ, paraffin, minyak imersi.

### Pemeriksaan Kandungan Flavonoid

Pemeriksaan kandungan flavonoid menggunakan kromatografi lapis tipis. Ekstrak yang telah diperoleh dilarutkan dalam metanol p.a. kemudian ditotolkan pada gase diam silika gel 60-F254 (Merck, Darmstadt). Identifikasi flavonoid dengan fase gerak campuran etil asetat-metanol-air (100:13,5:10). Flavonoid dideteksi pada sinar tampak, UV 254, dan UV 366 dengan pereaksi semprot sitroborat.

### Uji Karsinogenesis

Desain penelitian ini merupakan modifikasi dari Tasminatun tahun 2005. Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing terdiri dari 6 ekor tikus. Sebelum digunakan, tikus diadaptasikan selama 3 hari dan hanya mendapat pakan dan minum secukupnya. Kelompok A, yaitu kelompok perlakuan DMBA, diinduksi DMBA dalam *corn oil* dengan dosis 20 mg/kgBB p.o. sebanyak 10 kali selama satu bulan. Kelompok B, yaitu kelompok kontrol pelarut CMC-Na dan kelompok C adalah kelompok kontrol ekstrak dosis 1500 mg/kgBB. Kelompok D dan E, yaitu kelompok DMBA+ekstrak (750 dan 1500 mg/kgBB), diberi ekstrak etanolik kulit *C. reticulata* yang disuspensikan ke dalam CMC-Na 0,5% setiap hari selama 1 minggu (dimulai minggu kelima setelah pemberian DMBA). Setelah pemberian DMBA yang terakhir, semua tikus diberi pakan hingga akhir pengamatan. Memasuki minggu ke-9, tikus diberi perlakuan ekstrak selama 1 minggu, selanjutnya dilakukan nekropsis. Organ hepar diisolasi dan diawetkan dengan *buffer* formalin untuk analisis proliferasi.

### Pengamatan Proliferasi Sel dengan AgNOR (*Argyrophillic Nucleolar Organizer Regions*)

Preparat histologi diimersikan dalam *buffer* sodium sitrat (pH 6,0), diinkubasi di

dalam *autoclave* pada suhu 120°C (tekanan 1,1-1,2 bar) selama 20 menit, didinginkan sampai suhu 37°C, kemudian diimersikan ke dalam larutan pengecatan perak yang terdiri dari 1 bagian volume gelatin 2% dalam asam formiat 1% dan 2 bagian larutan perak nitrat 25% dalam suhu 37°C, selama 13 menit (Derenzini *et al.*, 2003). Pengamatan jaringan dilakukan dengan mikroskop cahaya (Olympus, Japan).

### Analisis Data

Pengamatan proliferasi sel dengan mengkuantifikasi terhadap titik-titik AgNOR dengan cara mAgNOR, yaitu dengan perhitungan jumlah seluruh titik hitam pada minimal 100 sel kemudian dirata-rata dengan cara membagi jumlah seluruh titik hitam dengan jumlah sel yang diamati (Derenzini *et al.*, 2000). Analisis data menggunakan analisis statistik dengan metode *one-way ANOVA* dengan tes *Tukey* taraf kepercayaan 95% ( $P < 0,05$ ). Ekspresi c-Myc diamati secara kualitatif dengan melihat adanya warna coklat pada sitoplasma.

## HASIL

### Ekstraksi dan Pemeriksaan Kandungan Flavonoid

Sebanyak 494 gram serbuk kering diekstraksi, didapatkan 1 kilogram ekstrak kental sehingga diperoleh rendemen sebesar 2,15 %. Reaksi flavonoid dengan sitroborat

menghasilkan warna kuning pada sinar tampak (Schneider, 1985). Deteksi flavonoid dalam ekstrak menunjukkan hasil yang positif.

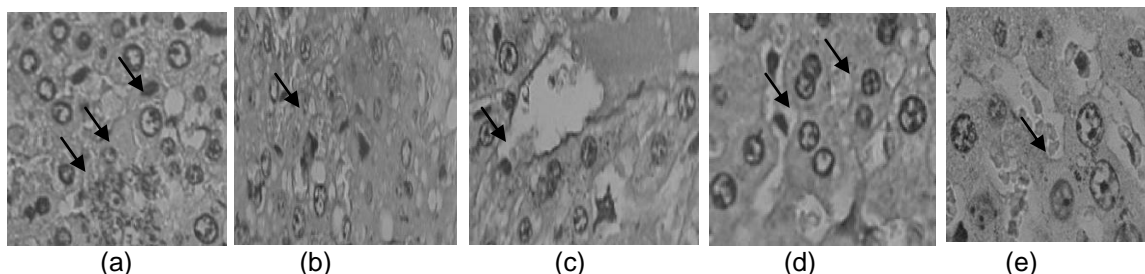
**Tabel 1**—Identifikasi Flavonoid dideteksi dengan sitroborat

No	hRf	Sinar tampak	UV 254	UV 365
1	72	Kuning lemah	Pemadaman	Fluoresensi biru-ungu

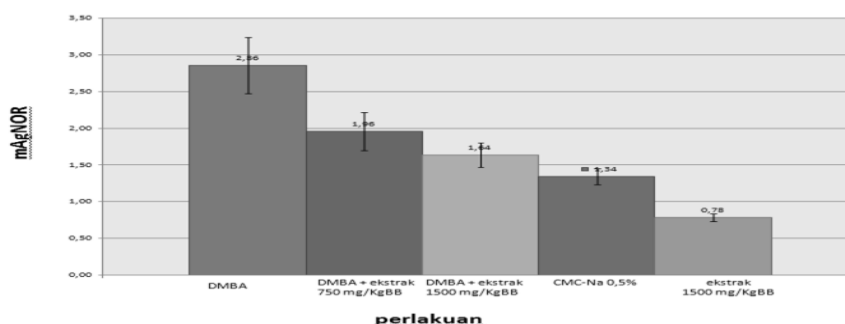
Keterangan: hasil elusi ekstrak etanolik kulit jeruk keprok dengan cara Kromatografi Lapis Tipis menggunakan fase diam silika 60 F 254 dan fase gerak etil-asetat:metanol:air (100:13,5:10)

### Pengamatan Proliferasi Sel Hepar dengan Teknik Pewarnaan AgNOR

Metode ini memperkirakan pembelahan sel dengan mengkuantifikasi protein NORs (*Nucleolar Organiser Regions*) yang mengindikasikan aktivitas proliferasi kultur sel atau sebuah tumor (Derenzini *et al.*, 2003). Gambaran preparat AgNOR organ hepar menunjukkan bahwa jumlah *black dot* kelompok DMBA lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah kelompok tanpa perlakuan (Gambar 4a dan 4b). Hasil ini menunjukkan adanya aktivitas proliferasi yang berlebihan pada kelompok DMBA dibandingkan kelompok tanpa perlakuan. Adanya aktivitas proliferasi sel yang berlebih pada kelompok DMBA dimungkinkan terjadinya karsinogenesis pada hepar tikus.



**Gambar 1**—Efek penghambatan proliferasi sel hepar tikus terinduksi DMBA oleh ekstrak etanolik kulit *C. reticulata*. Pengukuran proliferasi sel dilakukan dengan pewarnaan menggunakan perak nitrat. Aktivitas proliferasi ditunjukkan oleh jumlah *black dot* yang terdapat pada sel (ditunjukkan dengan tanda panah). Gambar di atas menunjukkan sel hepar tikus kelompok: DMBA (a), kontrol pelarut CMC-Na 0,5 % (b), kontrol ekstrak dosis 1500 mg/kg BB (c), DMBA+ekstrak 750 mg/kgBB (d) dan DMBA+ekstrak 1500 mg/kgBB (e) pada mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000x. Preparat histologi jaringan diimersikan dalam buffer sodium sitrat (pH 6,0) kemudian diinkubasi di dalam *autoclave* pada suhu 120°C (tekanan 1,1-1,2 bar).



**Gambar 2**—Efek penurunan jumlah *blackdot* sel hepar tikus akibat pemberian ekstrak kulit jeruk keprok. Kuantifikasi *black dot* pada sel hepar yang menunjukkan penurunan persentase jumlah *black dot* karena pemberian ekstrak (rata-rata *blackdot* ± SD) diperoleh dengan menghitung 100 sel tiap lapang pandang dengan perbesaran 1000x, sebanyak 10 lapang pandang yang berbeda. Semua kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan signifikan dengan kelompok DMBA dengan taraf signifikansi dengan  $p < 0,05$ .

Jumlah *black dot* pada kelompok perlakuan DMBA+ekstrak (750 dan 1500 mg/kgBB) lebih sedikit dibandingkan jumlah *black dot* kelompok DMBA (Gambar 1a, 1d, dan 1e). Penurunan jumlah *black dot* menunjukkan bahwa ekstrak dapat menurunkan tingkat proliferasi sel hepar. Penurunan jumlah *black dot* bersifat tergantung dosis. Analisis statistik dengan menggunakan uji *one-way ANOVA* memberikan perbedaan skor mAgNOR secara signifikan antara kelompok DMBA dengan DMBA+ekstrak 1500 mg/kgBB (Gambar 2). DMBA+ekstrak 1500 tidak berbeda signifikan terhadap kontrol pelarut dan kontrol ekstrak ( $P > 0,05$ ).

Peningkatan proliferasi sel dan terjadinya overekspresi onkogen merupakan alasan yang menjadikan penyakit kanker sangat mematikan. Pentingnya penekanan ekspresi onkogen dan penghambatan proliferasi sel pada penyakit kanker telah menjadi target pencegahan kanker (Kawajiri, 1993). Salah satu metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi ekspresi onkogen adalah dengan Immunohistokimia.

## PEMBAHASAN

Salah satu senyawa dalam kulit *C. reticulata* yang mempunyai efek kemopreventif adalah flavonoid. Mekanisme pencegahan kanker oleh senyawa flavonoid meliputi antiproliferasi, *cell cycle arrest*, dan penekanan ekspresi onkogen tertentu (Ren *et al.*, 2003). Hal tersebut didukung dengan penelitian secara *in vitro* yang menunjukkan ekstrak kulit jeruk Keprok (*C. reticulata*) mempunyai efek antiproliferasi dan dapat menginduksi apoptosis pada sel kanker lambung SNU-668 (Kim *et al.*, 2005). Dalam penelitian ini ekstrak etanolik kulit *C. reticulata* mempunyai kandungan flavonoid yang telah dibuktikan dengan pereaksi sitroborat.

Kandungan polimetoksi flavonoid tangeretin dan nobiletin dalam kulit jeruk keprok sangat tinggi. Tangeretin dilaporkan dapat menghambat invasi dan metastasis pada sel HL-60 (Bracke *et al.*, 1994), selain itu nobiletin juga bersifat antiproliferatif pada sel kanker skuamosa (Kandawaswami *et al.*, 1991). Tangeretin juga dapat menghambat pertumbuhan sel fase G1 pada sel kanker COLO 205 (Pan *et al.*, 2002). Dalam penelitian ini pemberian ekstrak selama 7 hari menunjukkan hasil bahwa kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak dapat menghambat proliferasi pada sel hepar

## DAFTAR PUSTAKA

Bracke, M., Bruyneel, E.A., Vermeulen, S.J., Vennekens, K., Marck, V.V. and Mareel, M.M. 1994. 'Citrus flavonoid effect on tumor invasion and metastasis', *Food Technol*, vol. 48, pp. 121–142

terinduksi DMBA (Gambar 1d dan 1e). Wardani *et al.*, 2008 juga menyebutkan bahwa ekstrak etanolik kulit *C. reticulata* mampu menekan ekspresi c-Myc pada hepar tikus terinduksi DMBA.

Salah satu mekanisme penurunan insidensi kanker pada sel hepar setelah pemberian ekstrak kemungkinan disebabkan oleh suatu senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak. Senyawa di dalam ekstrak etanolik kulit jeruk *C. reticulata* yang diduga mempunyai efek tersebut adalah senyawa golongan flavonoid terutama golongan polimetoksiflavon (Walle, 2007). Terjadinya penurunan proliferasi dan penurunan ekspresi c-Myc dimungkinkan karena kandungan flavonoid tangeretin dan nobiletin. Hal tersebut merujuk pada penelitian Nugroho *et al* (2008) yang menyebutkan bahwa kedua senyawa tersebut mampu berinteraksi dengan ligan c-Src yang merupakan *up stream* dalam pembentukan c-Myc. Namun dalam penelitian ini keberadaan tangeretin dan nobiletin dalam ekstrak belum diketahui kadarnya. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai hal tersebut.

Prospek ekstrak etanolik kulit *C. reticulata* dapat digunakan sebagai *suppressing agent* pada karsinogenesis karena dapat menghambat proliferasi dan mempunyai kemampuan menekan ekspresi onkogen c-Myc (Wardani *et al.*, 2008). Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanolik kulit *C. reticulata* mempunyai potensi kemopreventif yang besar dalam menghambat pertumbuhan kanker hepar. Hasil penelitian ini dapat dijadikan landasan mengenai penggunaan kulit *C. reticulata* sebagai bahan kemopreventif dan dapat juga dipergunakan untuk pengembangan penelitian-penelitian selanjutnya mengenai terapi kanker hepar.

## KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanolik kulit jeruk keprok dapat menekan karsinogenesis melalui penghambatan proliferasi dan penekanan ekspresi c-Myc pada sel hepar tikus terinduksi DMBA, sehingga kulit jeruk keprok dapat dijadikan bahan kemopreventif.

## UCAPAN TERIMAKASIH

DP2M DIKTI yang telah membantu mendanai penelitian ini melalui program PKM 2008

Derenzini, M., Trere, D., O'Donohue, M. F. and Ploton, D. 2003. Interphase Nucleolar Organiser Regions in Tumour Pathology. Crocker, J and Murray, P.G (editor), *Molecular Biology in Cellular Pathology*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester

Wardani, D.A.P.K., Nugroho, P.A., Darma, A.P., Ikawati, M., Riyanto, S., and Meiyanto., 2008, Potensi Kemopreventif Ekstrak Etanolik Kulit Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*) pada Sel Kanker Hepar Tikus Galur Sprague Dawley Terinduksi 7,12-dimetilbenz[a]antrasena Melalui Penekanan Ekspresi c-Myc, *Prosiding Kongres Ilmiah ISFI XVI 2008*, ISBN: 978-979-95107, Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia

Izzotti, Alberto, Camoirano, Anna, Cartiglia, C., Grubbs, and Clinton J. 1999. 'Patterns of DNA Adduct Formation in Liver and Mammary Epithelial Cells of Rats Treated with 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene, and Selective Effects of Chemopreventive Agents', *J.Can. Res*, vol. 59, pp. 4285-4290

Kandawaswami, C., Perkins, E., Soloniuk, D.S., Drzewiecki, G. and Middleton, E., Jr. 1991. Antiproliferative effects of citrus flavonoids on a human squamous cell carcinoma in vitro, *Cancer Lett*, vol. 56, pp. 147–152

Kawajiri, K., Nakachi, K., Imai, K., Watanabe, J and Hayashi, S (1993) The CYP1A1 gene and cancer susceptibility. *Crit Rev Oncol Hematol* 14:77–87

Kim, M.J., Park, H.J., Hong, M.S., Park, H.J., Kim, M.S., and Leem, K.H., 2005. Citrus Reticulata Blanco Induces Apoptosis in Human Gastric Cancer Cells SNU-668, *Nutrition and Cancer*, vol. 51, no.1, pp. 78–82

La Rosa, F.A., 1994, Differential Regulation of the c-Myc Oncogene Promotor by the NF-kB Rel Family of Transcription Factor, *Molecular and Cellular Biology*, 1039–1044

Moriguchi, T., Kitai, M., Hasegawa, S., and Omur, M. 2003. 'Molecular approach to citrus flavonoid and limonoid biosynthesis', *Food, Agriculture & Environment*, vol. 1, no. 1, pp. 22–25

Nogata, Y., Sakamoto, K., Shiratsuci, H., Ishii, T., Yano, M and Ohta, H. 2006. 'Flavonoid Composition of Fruit Tissues of Citrus Species', *Biosci.Biotechnol.Biochem*, vol. 70, no.1, pp. 178-192

Pan, M. H., Chen, W. J., Shiau, S. Y. L., Ho, C. T., and Lin, J. K. 2002. Tangeretin Induced Cell Cycle G1 Arrest through Inhibiting Cyclin Dependent Kinases 2 and 4 Activities as well as Elevating Cdk Inhibitor p21 and p27 in Human Colorectal Carcinoma Cell, *Carcinogenesis*, vol. 23, no. 10, pp. 1677–1684

Nugroho, P.A., Wardani, D.A.P.K, Darma, A.P., Riyanto, S., and Meiyanto, E., 2008., Penelusuran Mekanisme Penekanan Ekspresi N-RAS Ekstrak Etanolik Kulit Jeruk Keprok (*C. reticulata*) Sebagai Agen Kemopreventif Melalui Docking Molekuler Pada Protein Target C-Src dan CYP1A2, *Prosiding Kongres Ilmiah ISFI XVI 2008*, ISBN : 978-979-95107, Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia

Ren, W., Zhenhua, Q., Hongwei, W., Lei, Z., and Li, Z. 2003. Flavonoids: Promising Anticancer Agents, *Medicinal Research Reviews* , vol. 23, no. 4, pp.519–534

Walle, T., 2007, Methoxylated flavones, a superior cancer chemopreventive flavonoid subclass?, *Seminars in Cancer Biology*, vol. 17, 354–362

Zhai, S., Dai, R., Friedman, F. K., and Vestal, R. E., 1998, Comparative inhibition of human Cytochromes P4501A1 and 1A2 by flavonoids, *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics* vol. 26, no. 10, 989–992