

آثار ضد درد و ضد التهاب فراکشن اتیل استاتی گیاه بادآورد

(Centaurea Bruguierana ssp. Belangerana) در موش سوری نر

شبنم کیا کجوری (MSc)^۱ - دکتر سیما نصری (PhD)^۱ - دکتر غلامرضا امین (PhD)^۲

* نویسنده مسئول: گروه علمی زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

پست الکترونیک: s_nasril@pnu.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۹۲/۰۲/۰۳ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۰/۲۲

چکیده

مقدمه: در سال‌های اخیر پژوهش بر گونه‌های مختلف جنس گل‌گندم از خانواده آفتابگردان نشان داده که عصاره یا متابولیت‌های ثانویه گونه‌های گل‌گندم آثار فارماکولوژی گوناگونی مانند ضد التهاب، ضد درد و سیتوتوکسیک و ... از خود نشان می‌دهد.

هدف: بررسی اثر ضد درد و ضد التهاب فراکشن اتیل استاتی گیاه میوه‌دار بادآورد در موش سوری نر

مواد و روش‌ها: بخش‌های مختلف گیاه بادآورد از استان بوشهر جمع‌آوری، به روش پرکولاسیون عصاره هیدروآتانولی ۸۰٪ از آن تهیه و سپس عصاره هیدروآتانولی ۸۰٪ فراکشنه شد. اثر ضد درد فراکشن اتیل استاتی با آزمون فرمالین و آزمون غوطه‌وری دم و اثر ضد التهاب توسط آزمون گزین در موش کوچک نر نژاد NMRI بررسی شد. موش‌ها به طور تصادفی به ۶ گروه ۸ تایی کنترل منفی، کنترل مثبت و ۴ گروه تجربی (دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ و ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فراکشن اتیل استاتی) تقسیم شدند. کلیه مواد داخل صفاقی تزریق شدند. برای تعیین نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف استفاده شد. داده‌های نرمال با آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی و آنالیز داده‌های غیرنرمال با آزمون کروسکال والیس و آزمون من ویتنی بررسی شد.

نتایج: در آزمون فرمالین، فراکشن اتیل استاتی در همه دوزها هم در فاز درد حاد و هم در فاز درد مزمن دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.001$) با گروه شاهد بود. در آزمون غوطه‌وری دم فراکشن اتیل استاتی در دوز ۱۰۰ در زمان‌های t_1, t_2, t_3 دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) و در زمان t_3 دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.01$)، در دوز ۲۰۰ و ۴۰۰ و ۸۰۰ در زمان‌های t_0 دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.01$) و در زمان‌های t_1, t_2, t_3 دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.001$)، در دوز ۴۰۰ در زمان‌های t_1, t_2 دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) و در زمان t_3 و t_2 دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.01$) با گروه شاهد بود. در آزمون گزین، فراکشن اتیل استاتی در همه دوزها دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.001$) با گروه شاهد بود. نالوکسان باعث مهار اثر ضد دردی فراکشن اتیل استاتی در فاز درد حاد شد اما در فاز درد مزمن بی‌تاثیر بود.

نتیجه‌گیری: فراکشن اتیل استاتی گیاه بادآورد اثرات ضد درد بسیار موثری دارد. اثرات ضد دردی و ضد التهابی این ماده را شاید بتوان به وجود سزکویی‌ترین لاکتون‌ها و فلاونوئیدها نسبت داد این ترکیب‌ها با مهار میانجی‌های التهاب باعث تسکین التهاب و درد می‌شوند.

کلید واژه‌ها: التهاب/ ضد درد/ گل‌گندم

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره بیست و سوم شماره ۹۰، صفحات: ۷۱-۶۴

مقدمه

در داروهای سنتی سراسر جهان بکار می‌رود. گواه علمی مبنی بر اثر ضد دیابتی، ضد اسهال، ضد روماتیسم، ضد التهاب، ضد درد، ضد تب، ضد درد معده، کاهش فشارخون، سیتوتوکسیک و ضد باکتری از گیاهان جنس گل‌گندم بدست آمده است (۳). مطالعات فیتوشیمی بر ترکیبات غیر فرار گیاهان جنس گل‌گندم نشان داد که این گیاهان شامل سزکویی‌ترین لاکتون‌ها، فلاونوئیدها، لیگنان‌ها، پلی‌ساکاریدها و گلیکوزیدها هستند. همچنین به مقدار ناچیز حاوی کومارین‌ها و ایندول‌آلکالوئیدها هستند. سزکویی‌ترین لاکتون‌ها و

مدیریت و درمان درد چه بسا یکی از شایع‌ترین و در عین حال سخت‌ترین جنبه‌های استفاده از داروها باشد (۱). داروهای ضد درد و ضد التهاب موجود طیف وسیع و گسترده‌ای از عوارض جانبی ایجاد می‌کنند. پیدا کردن ترکیب‌های ضد درد جدید یک نخستینگی برای پژوهشگران محسوب می‌شود. امروزه محققان بر این باورند که گیاهان با دارا بودن منابع ارزشمندی از ترکیبات شیمیایی می‌توانند برای کاهش درد و تولید مسکن مورد استفاده قرار گیرند (۲). بخش‌های هوایی چندین گونه جنس گل‌گندم (Centaurea)

۱. گروه علمی زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲. گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریکی نگهداری شدند و همواره به آب و غذا دسترسی داشتند. موش‌ها به طور تصادفی به ۶ گروه ۸ تایی تقسیم شدند که گروه کنترل منفی (سالین نرمال + توئین ۲۰٪)، کنترل مثبت در آزمون فرمالین و غوطه‌وری دم (مورفین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و در آزمون گزین (دگزامتازون ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و ۴ گروه تجربی تقسیم شدند. به موش‌های گروه‌های تجربی دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ و ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فراکشن اتیل استاتی تجویز شد همه مواد به صورت داخل صفاقی تزریق شدند (۱۰). برای مشخص شدن اثر آنتاگونیست گیرنده‌های اوبیوئیدی بر بی‌دردی ناشی از فراکشن اتیل استاتی در آزمون فرمالین، موش‌ها به طور تصادفی به ۴ گروه ۸ تایی تقسیم شدند، گروه کنترل منفی (سالین نرمال+توئین ۲۰٪)، کنترل مثبت (مورفین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، گروه نالوکسان (نالوکسان ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه تداخلی (نالوکسان ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم و موثرترین دوز عصاره) را دریافت کردند (۱۱).

آزمون فرمالین: ۳۰ دقیقه پیش از تزریق زیرجلدی فرمالین، فراکشن یا مورفین را به حیوان تزریق کرده و بی‌درنگ حیوان را در جعبه آزمون درد قرار دادیم. پس از این مدت، ۰/۰۲ میلی‌لیتر فرمالین ۲/۵ درصد به زیر پوست کف پای راست حیوان به صورت زیرجلدی تزریق شد. حیوان دوباره به جعبه ویژه آزمون برگردانده شده و هنگامی که پا را لیسیده، جویده یا بشدت تکان می‌داد به عنوان مدت لیسیدن در نظر گرفته می‌شد. میانگین مدت لیسیدن در فاصله زمانی ۵-۰ دقیقه به عنوان فاز اول درد و میانگین دقیق ۳۵-۱۵ به عنوان فاز دوم در نظر گرفته شد (۱۲). برای اینکه خطای مشاهده‌کننده به حداقل برسد از دوربین فیلم‌برداری برای ضبط رفتار حیوان استفاده شد و سپس فیلم‌ها بدقت بررسی شد.

آزمون غوطه‌وری دم: در آزمون غوطه‌وری دم، ۱۵ دقیقه پس از تزریق فراکشن یا مورفین، هر موش به مدت ۱۵ دقیقه در مقیدکننده قرار می‌گیرد تا سازگار شود. سپس دم هر موش را در آب ۴۹ درجه سانتیگراد قرار داده و مدت زمانی را که طول می‌کشد تا موش دم خود را به بالا و خارج آب حرکت دهد، ثبت می‌شود. این آزمون برای هر موش ۴ بار در فواصل

فلاونوئیدها از ترکیبات اصلی گونه‌های گل‌گندم هستند (۴). حدود ۱۵۰۰ مطلب منتشر شده وجود دارد که نشان‌دهنده اثر ضدسرطان و ضد التهاب سزکویی‌ترین لاکتون‌ها است (۵). فلاونوئیدها اعمال آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ایمنی، ضد آلرژی، ضد موتازن، ضدروماتیسم و اثرات ضد درد دارند (۶). فلاونوئیدها هم در فاز درد حاد و هم فاز درد مزمن اثر تسکینی دارد و این عمل را با مهار فعالیت پروتئین کینازها، مهار تولید نیتریک اکساید و مهار میانجی‌های التهابی انجام می‌دهند (۷). جنس گل‌گندم در فلور ایرانیکا ۸۸ گونه دارد. گیاه بادآورد گیاهی است یک‌ساله به بلندی ۵۰-۵ سانتی‌متر دارای گل‌هایی خاردار به رنگ بنفش که در ایران، قفقاز، افغانستان، پاکستان و آسیای میانه می‌روید (۸). ما بر آن شدیم تا عصاره تام هیدرواتانولی ۸۰٪ را فراکشن کرده و به بررسی اثرات ضد درد و ضد التهاب فراکشن اتیل استاتی آن پردازیم که تاکنون هیچ پژوهشی بر آن صورت نگرفته است.

مواد و روش‌ها

تهیه گیاه و عصاره‌گیری و تهیه فراکشن: گیاه بادآورد از استان بوشهر، شهرستان برازجان، جاده امامزاده در تیر ماه ۸۷ جمع‌آوری شد و در دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران توسط دکتر غلامرضا امین تایید و به شماره هرباریومی 6683-TEH ثبت شد. ۳۰۰ گرم بخش‌های هوایی گیاه میوه‌دار بادآورد همراه با هیدرواتانول ۸۰٪ در پرکولاتور ریخته شد و در دمای اتاق قرار گرفت. پس از دو هفته عصاره تام هیدرواتانولی جمع‌آوری، تغلیظ و خشک شد (مقدار عصاره تام هیدرواتانولی ۳۵/۵ گرم). سپس، این عصاره با حلال اتیل استات، به روش حلال در حلال فراکشن شد (۹) و فراکشن تغلیظ و خشک شد. مقدار فراکشن اتیل استاتی ۴/۱ گرم بود. برای تهیه دوز مناسب فراکشن اتیل استاتی از حلال آبی + ۰/۵ سی‌سی توئین ۲۰٪ استفاده شد (۱۰).

حیوانات: در این پژوهش از ۲۱۶ سر موش کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI با محدوده وزنی ۲۰-۲۵ گرم استفاده شد. حیوانات از انستیتو پاستور ایران خریداری شده و در شرایط آزمایشگاهی با درجه حرارت ۲۵-۲۳ درجه سانتی‌گراد و چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت

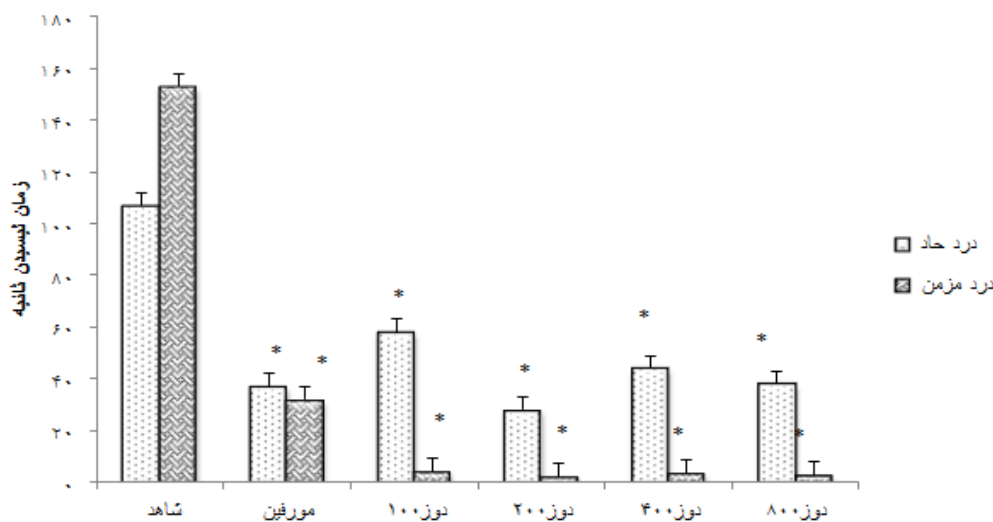
Kolmogorov-Smirnov) استفاده شد. داده‌های نرمال با آنالیز واریانس یک طرفه (One way ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی (Tukey Test) مورد استنتاج قرار گرفتند و برای آنالیز داده‌های غیرنرمال با آزمون کروسکال والیس (Kruskal Wallis Test) و آزمون من ویتنی (Mann-Whitney Test) استفاده شد. برای رسم نمودارها برنامه Excel بکار رفت.

نتایج

در آزمون فرمالین، فراکشن اتیل استاتی در همه دوزها هم در فاز درد حاد و هم در فاز درد مزمن با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار ($P < 0/001$) داشت و هیچ‌کدام از دوزها با گروه مورفین اختلاف معنی‌داری نداشتند. بهترین اثر در دوز ۲۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیده شد (نمودار ۱).

زمانی ۶،۴،۲،۰ دقیقه تکرار شد. اگر در مدت ۳۰ ثانیه موش پاسخی نمی‌داد، جهت جلوگیری از آسیب دم، موش کنار گذاشته می‌شد (۱۳).

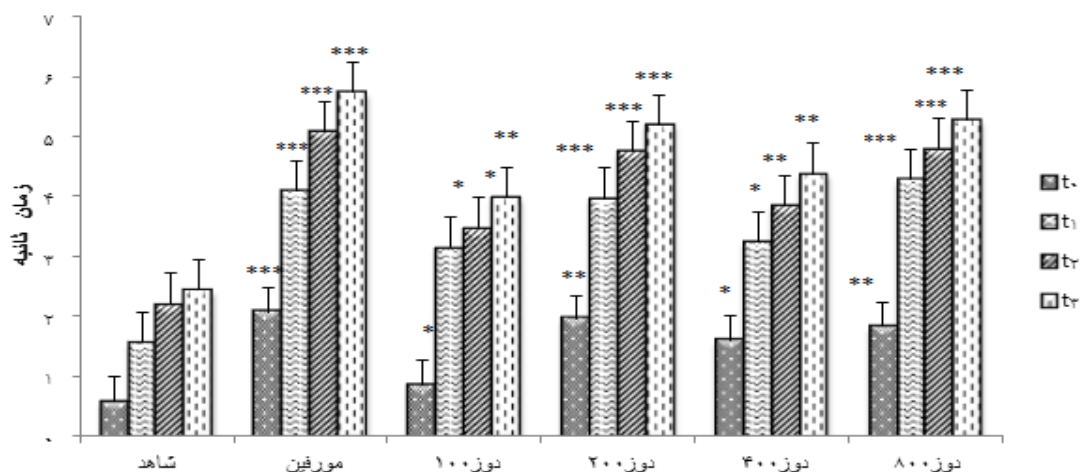
آزمون گزین: ۱۵ دقیقه پس از تزریق فراکشن برای اعمال اثر تیمار، ۰/۰۳ میلی‌لیتر گزین که به عنوان یک ماده التهاب‌آور شناخته می‌شود به سطح قدامی و خلفی لاله گوش راست حیوان تزریق شد. پس از دو ساعت، حیوان را کشته، سپس، برش‌های ۷ میلی‌متری از هر دو گوش حیوان تهیه و وزن شد. اختلاف وزن برش‌های گوش چپ و راست هر حیوان میزان التهاب ایجاد شده در گوش را نشان می‌داد. در این مقایسه هر چه اختلاف وزن بیشتر باشد میزان التهاب نیز بیشتر است (۱۴). روش‌های آماری مورد استفاده: در این پژوهش بررسی آماری با نرم‌افزار SPSS انجام شد. برای تعیین نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف (One-Sample



نمودار ۱ نتایج حاصل از تزریق داخل صفاقی فراکشن اتیل استاتی گیاه بادآورد بر درد در آزمون فرمالین گروه شاهد (سالمین نرمال) گروه کنترل مثبت (مورفین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) ($P < 0/001$): تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد

اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) و در زمان t_2 و t_3 اختلاف معنی‌دار ($P < 0/01$) با گروه شاهد داشت ولی هیچ‌کدام از دوزها با گروه مورفین اختلاف معنی‌داری نداشتند. بهترین اثر در دوز ۲۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بدست آمد (نمودار ۲).

در آزمون غوطه‌وری دم در آب داغ، فراکشن اتیل استاتی در دوز ۱۰۰ در زمان‌های t_0, t_1, t_2 اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) و در زمان t_3 اختلاف معنی‌دار ($P < 0/01$)، در دوز ۲۰۰ و ۸۰۰ در زمان‌های t_0 اختلاف معنی‌دار ($P < 0/01$) و در زمان t_1, t_2, t_3 اختلاف معنی‌دار ($P < 0/001$)، در دوز ۴۰۰ در زمان‌های t_0, t_1

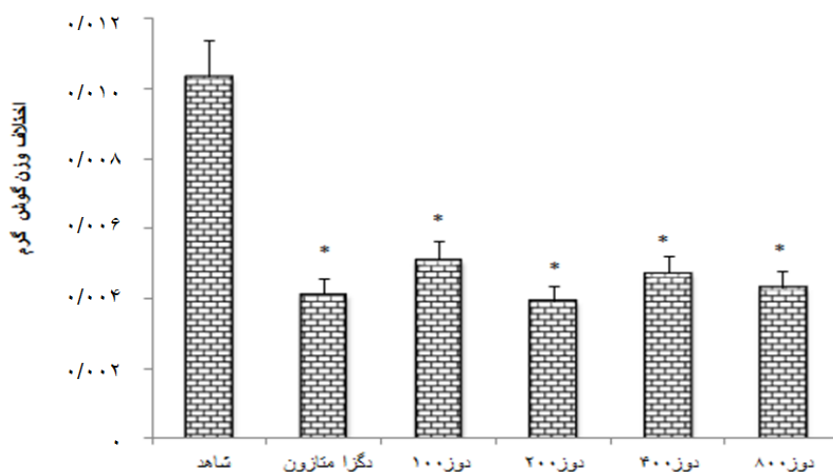


نمودار ۲. نتایج حاصل از تزریق داخل صفاقی فراکشن اتیل استاتی گیاه بادآورد بر درد در آزمون غوطه‌وری دم. گروه شاهد (سالین نرمال) گروه کنترل مثبت (مورفین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)

* ($P < 0.05$): تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد، ** ($P < 0.01$): تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد، *** ($P < 0.001$): تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد

بهترین اثر در دوز ۲۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده شد (نمودار ۳).

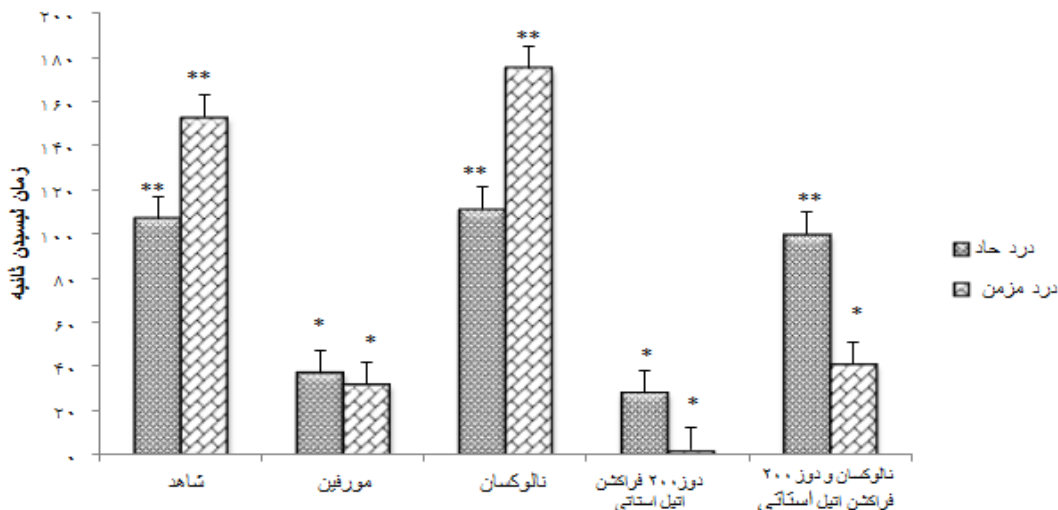
درآزمون گزین، فراکشن اتیل استاتی در همه دوزها دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.001$) با گروه شاهد بود و هیچکدام از دوزها اختلاف معنی‌داری با گروه دگزامتازون نداشتند و



نمودار ۳. نتایج حاصل از تزریق داخل صفاقی فراکشن اتیل استاتی گیاه بادآورد بر التهاب در آزمون گزین. گروه شاهد (سالین نرمال) گروه گزین (گزین ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد

اتیل استاتی نشان داد که نالوکسان در فاز درد حاد باعث مهار اثر ضددردی فراکشن شد به طوری که اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت اما در مقایسه با گروه مورفین دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.001$) بود. در فاز درد مزمن، نالوکسان تاثیر معنی‌داری بر مهار بی‌دردی ناشی از تجویز فراکشن نداشت (نمودار ۴).

نالوکسان که در آزمون فرمالین استفاده شد، باعث تشدید رفتار درد در هر دو فاز حاد و مزمن در مقایسه با گروه مورفین شد به طوری که اختلاف معنی‌دار در حد $P < 0.001$ بین گروه نالوکسان و مورفین دیده شد و در دو فاز درد حاد و مزمن تفاوت معنی‌داری بین گروه نالوکسان و گروه شاهد وجود نداشت. تجویز نالوکسان به همراه دوز ۲۰۰ فراکشن



نمودار ۴. نتایج حاصل از تزریق نالوکسان بر میزان بی‌دردی ناشی از تزریق داخل صفاقی دوز ۲۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم) فراکشن اتیل استاتی بر درد در آزمون فرمالین. گروه شاهد (سالمین نرمال) گروه کنترل مثبت (مورفین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن)، گروه نالوکسان (نالوکسان ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم)

* ($P < 0.0001$): تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد، ** ($P < 0.001$): تفاوت معنی‌دار با گروه مورفین

بحث و نتیجه‌گیری

شده‌اند. از عصاره کلروفومی گل‌های *C. solstitialis ssp.* دو نوع سزکویی‌ترین لاکتون: سولسیتالین A (*solstitialin A*) و استیل سولسیتالین (*acetyl solstitialin*) جدا شده که خاصیت ضدالتهابی دارد (۱۷). عصاره اتانولی گل‌های (*Centaurea tchihatcheffii*) باعث مهار التهاب شده‌است. عصاره بخش‌های هوایی این گیاه خواص ضد درد نشان داد و آنالیز عصاره نشان‌دهنده وجود سزکویی‌ترین لاکتون در عصاره بود. (۱۸) از گیاه (*Centaurea chilensis*) ترکیب دو استرمانوئید (*elemanolide esters*) (نوعی سزکویی‌ترین لاکتون) باعث مهار ادم پنجه پا ناشی از تزریق کارژینان شد (۱۹). عصاره کلروفومی و متانولی بخش‌های هوایی *C. calolepis* در ستون کروماتوگرافی قرار داد شد. از این عصاره‌ها تعدادی سزکویی‌ترین و فلاونوئید بدست آمد که اثرسنسین *Cnicin* (نوعی سزکویی‌ترین لاکتون جدا شده از عصاره کلروفومی) بر روی التهاب نشان داد که این ماده نیز مهار فاکتور هسته‌ای کاپا ب و نیز مهار فعالیت آنزیم الفاکاننده نیتریک اکساید سنتتاز می‌شود. سنسین اثر سایتوتوکسیک مشخصی نیز از خود نشان داد (۲۰). عصاره متانولی *Centaurea ainetensis* و ماده سالوگراویولید (*Salograviolide A*) (نوعی سزکویی‌ترین لاکتون) جدا

براساس یافته‌ها فراکشن اتیل استاتی آثار ضد درد و ضدالتهابی بسیار موثری دارد، در آزمون فرمالین در فاز درد مزمن همه دوزهای فراکشن اتیل استاتی اثری به مراتب قوی‌تر از مورفین از خود نشان دادند. در تحقیقات دیگری که بر گیاه بادآورد صورت گرفت نتایج مشابهی در مورد تاثیر فراکشن‌ها بدست آمد. اثر سایتوتوکسیک عصاره هیدرو اتانولی گیاه میوه‌دار و فراکشن‌های اترپترلئومی، کلروفومی، اتیل استاتی، بوتانولی و اتانولی باقیمانده بررسی شد. فراکشن کلروفومی و اتیل استاتی اثر سایتوتوکسیک بسیار موثری داشتند (۱۵). اثر ضد زخم معده عصاره تام اتانولی بخش‌های هوایی گیاه گل‌دار بادآورد و فراکشن‌های پترلئومی، کلروفومی، اتیل استاتی، بوتانولی و هیدرو اتانولی (۵۰٪) گیاه بادآورد بررسی شد. عصاره تام هیدرو اتانولی و فراکشن کلروفومی بهترین اثر ضد زخم معده را از خود نشان دادند. تاثیر فراکشن اتیل استاتی هم مشهود بود (۱۶). این بررسی‌ها نشان می‌دهد مواد موثر گیاه بادآورد بیشتر توسط حلال‌های کلروفومی و اتیل استاتی جدا می‌شود. شواهدی وجود دارند نشان می‌دهند که وجود سزکویی‌ترین لاکتون‌ها و فلاونوئیدها در گیاهان جنس گل‌گندم باعث اثرات ضدالتهابی و ضد درد این گیاهان

آنتاگونیست عمومی گیرنده‌های اوبیوئیدی و درمان عوارض سوءمصرف و رفع مسمومیت‌های موادی چون مورفین تجویز می‌شود. گیرنده‌های اوبیوئیدی در نواحی نخاعی و فوق‌نخاعی دستگاه عصبی دخالت مستقیم دارند و به همین دلیل تجویز آنتاگونیست عمومی این گیرنده‌ها یعنی نالوکسان قادر به مهار بی‌دردی داروهای مانند مورفین بوده و حتی حساسیت به درد را نیز القاء می‌کند (۲۹). این دارو با بلوکه کردن گیرنده‌های اوبیوئیدی موجب جلوگیری از عملکرد آگونیست‌های این گیرنده‌ها مانند مورفین می‌شود (۳۰). نالوکسان در فاز حاد درد باعث خشی شدن اثر ضددردی فراکشن اتیل استاتی شد اما در فاز مزمن درد، نتوانست اثر فراکشن اتیل استاتی را خشی کند. بر اساس شواهد می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت شاید ترکیبات موجود در گیاه بادآورد بویژه فلاونوئیدها در فاز اول درد با مهار گیرنده‌های اوبیوئیدی موجب تسکین درد می‌شوند و در فاز دوم درد با مهار واسطه‌های التهابی، التهاب و درد التهابی را بخوبی مهار می‌کنند. پیشنهاد می‌شود در مطالعه‌های آتی اثر ضددردی و ضدالتهابی سایر فراکشن‌های عصاره گیاه بادآورد، همچنین جداسازی ترکیبات موثر و اثرات ضددردی و ضدالتهابی آنها بررسی شود.

تشکر و قدردانی: با تشکر از سرکار خانم دکتر افسانه رجبی، و جناب آقای شهرداد محبعلی که ما را در این تحقیق یاری کردند. همچنین، از همه کارکنان آزمایشگاه دانشگاه پیام نور مرکز تهران شرق و کارکنان آزمایشگاه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه تهران تشکر می‌کنیم.

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی ندارند.

شده از این گیاه با مهار ایتیلوکین-۱ باعث کاهش میزان سیکلواکسیژناز-۲ و همچنین کاهش ترانس لوکیشن فاکتور هسته‌ای کاپا ب شد و ماده سالوگراویولید A باعث کاهش میزان سایتوکاین‌های التهابی و مهار التهاب شد (۲۱). اثرات ضد درد ۲۵ متابولیت ثانویه دو گیاه *Centaurea pullata* از الجزایر و *C. grisebachii ssp grisebachii* از یونان که ۱۵ ترکیب مربوط به سزکویی‌ترین‌لاکتون، ۶ ترکیب فلاونوئید، ۲ لیگنان، یک ایزوپرنوزید و یک تری‌ترین بود. نوعی فلاونوئید در آن با تأثیر ۹۷٪ بهترین ترکیب برای تسکین درد بود (۲۲). عصاره متانولی *Centaurea sadleriana* از راه سیستم حلال در حلال فراکشنه شد که دو فراکشن آن-هگزان و کلروفومی بدست آمد که در شرایط اینویوفراکشن آن-هگزان بیشترین اثر ضدالتهابی را داشت و در شرایط اینویترو فراکشن آن-هگزان و کلروفومی باعث مهار سیکلواکسیژناز ۲ا شد. بررسی فیتوشیمی این فراکشن‌ها انواعی از فلاونوئیدها را جدا کرد (۲۳). بررسی فیتوشیمی گیاه بادآورد باعث جداسازی دو سزکویی‌ترین‌لاکتون: سنسین و ایدرولیتنسن-۸- استات *ehydrolitensin-8-acetat* (۲۴) و فلاونوئیدها از این گیاه شد (۲۵). فلاونوئیدها و ترکیبات پلی‌فنولی در حلال اتیل استات به خوبی حل می‌شوند (۲۷). برخی فلاون‌ها از راه گیرنده‌های اوبیوئیدی عمل می‌کنند (۲۶). یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های اثر مهاری فلاونوئیدها بر التهاب حاد و مزمن مربوط به مهار آنزیم‌های تولیدکننده ایکوزانوئیدها از قبیل فسفولیپاز A₂، سیکلواکسیژنازها و لیپواکسیژنازها و در نتیجه کاهش غلظت پروستاگلاندین‌ها و لوکوترین‌ها می‌شود.

همچنین، فلاونوئیدها بر بیان ژن‌های پیش‌التهابی از قبیل سیکلوژناز-۲، نیتریک‌اکساید سنتتاز و چندین سایتوکاین اصلی اثر می‌گذارند (۲۸). نالوکسان دارویی است که به‌عنوان

منابع

1. Heidari M R, Mandgary A, Enayati M. Antinociceptive Effects and Toxicity of Fumaria Parviflora Lam. In Mice and Rats DARU 2004; 12: 136-140
2. Mokhtari M, Sarkaki A, Sharifi E, Basiryani E. Antinociceptive Effects of Grape Seed Oil with Use of Formalin Test in Male Rats. International Conference on Food Engineering and Biotechnology IPCBEE 2011; 9: 48-53.
3. Koca U, Suntara IP, Keles H, Yesilada E, Akkola EK. In Vivo Anti-inflammatory and Wound Healing Activities of *Centaurea Iberica* Trev. ex Spreng. Journal of Ethnopharmacology 2009; 126: 551-556.
4. Khammar A, Djeddi S. Pharmacological and Biological Properties of Some *Centaurea* Species. European Journal of Scientific Research 2012; 84: 398-416.

5. Djeddi S, Argyropoulou C, Skaltsa H. Secondary Metabolites from *Centaurea Ggrisebachii* Ssp. *Grisebachii*. *Biochem Syst Ecol* 2008; 36: 336-339.
6. Lopez-Lazaro M. Distribution and Biological Activities of the Flavonoid Luteolin. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* 2009; 9: 31-59.
7. Mehmet O, Yagiz U, Mehmet G. Comparison of the Effects of Specific and Nonspecific Inhibition of Nitric Oxide Synthase on Morphine Analgesia, Tolerance and Dependence in Mice *Life Sci* 2003; 72(17): 1943-1951.
8. Rechinger KH. *Flora Iranica*. No. 139b. Akademische Druck-u. Verlagsanstalt, Graz 1980; 3: 85-87.
9. Khanavi M, Rajabi A, Behzad M, Hadjiakhondi Vatandoost H, Abaee M R. Larvicidal Activity of *Centaurea Burguierana* ssp. *Belangerana* Againsts *Anopheles Stephensi* Larvae. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 2011; 10(4): 829-833
10. Nasri S, Ramezanghorbani A, Kamalinejad M. Analgesic and Anti-Inflammatory Effects of Hydroalcoholic Extract of *Stachys Lavandulifolia* Vahl s, Aerial Parts in Male Mice. *Armaghan Danesh* 2011; 62: 161-171 [Text in Persian]
11. Hosseeinzade H, Younesi M H. Antinociceptive and Anti-inflammatory Effects of *Crocus Sativus* L. Stigma and Petal Extracts in Mice. *BMC Pharmacology* 2002; 2: 1-8
12. Nasri S, Ramezani M, Yassa N. Antinociceptive and Anti-inflammatory Effects of Hydroalcoholic Extract of *Apium Graveolens* Seeds in Mice. *Journal of Medical Sciences of Shahrekord University* 2008; 4(10): 25-31 [Text in Persian]
13. Nasri S, Roghani M, Baluchnejad M, Balvardi M Rabani T. Antinociceptive Effect of chronic Administration of the Anthocyanin Cyanidin in Diabetic Rats: Behavioral Evidence. *Kowsar Medical Journal* 2010; 3(15): 135-40. [Text in Persian]
14. Mohebbali Sh Nasri S Kamalinejad M Noori A. Antinociceptive & Anti-inflammatory Effects of *Berberis Vulgaris* L. Root's Hydroalcoholic Extract and Determination of its Possible Antinociceptive Mechanism in Male Mice. *Journal of Paramedical Sciences* 2011; 2: 12-18.
15. Rajabi A, Khanavi M, Khademi R, Hadjiakhoondi A, Ostad SN. Investigation on Cytotoxic Activity of *Centaurea Bruguierana* ssp. *Belangerana*. *Planta Med* 2009; 9: 964-975
16. Khanavi M, Ahmadi R, Rajabi A, Jabari Afaee Sh, Hassanzadeh Gh, Khademi R, Hadjiakhoondi A, Sharifzadeh M. Pharmacological and Histological Effects of *Centaurea Bruguierana* ssp. *Belangerana* on Indomethacin-induced Peptic Ulcer in Rats. *The Japanese Society of Pharmacognosy and Springer* 2011; 66: 343-349.
17. Yesilada E, Gurbuz I, Bedir E, Tatli I, Khan IA. Isolation of Anti-ulcerogenic Sesquiterpene Lactone from *Centaurea Solstitialis* L. ssp. *Solstitialis* Through Bioassay- Guided Fractionation Procedure in Rast. *J Ethnopharmacol* 2004; 95: 213-219.
18. Ufuk K Gulnur T, Esra K A. Assessment of the Extract of *Centaurea Tchihatcheffii* Fischer for Anti-Inflammatory and Analgesic Activities in Animal Models. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 2009; 8 (3): 193-200.
19. Negrete R E Backhouse N Cajigal I Delporte C Cassels B K Breitmaier E Eckhardt G. Two New anti-Inflammatory Elemanolides from *Centaurea Chilensis*. *Journal of Ethnopharmacology* 1993; 40: 149 -153.
20. Erel S Karaalp C, Bedir E, Kaehlig H, Glasl S, Khan S, Krenn L. Secondary Metabolites of *Centaurea Calolepis* and Evaluation of Cnicin for Anti-Inflammatory, Antioxidant, and Cytotoxic Activities. *Pharmaceutical Biology* 2011; 49(8): 840-849.
21. Al-Saghir J, Al Ashi R, Salloum R, Saliba NA, Talhouk R, Homaidan F. Anti-Inflammatory Properties of Salograviolide A Purified from Lebanese Plant *Centaurea Ainetensis*. *BMC Complement Altern Med* 2009; 9(36): 1-10.
22. Djeddi S, Argyropoulou C, Chatter R. Analgesic Properties of Secondary Metabolites from Algerian *Centaurea Pullata* and Greek *C. Grisebachii* ssp. *Grisebachii*, *Journal of Applied Sciences Research*. 2012; 8(6): 2876-2880.
23. Csupor D, Widowitz U, Blazso G, Laczko-Zold E, Tatsimo J S N, Balogh A, Boros K, Danko B, Bauer R, Hohmann J. Anti-inflammatory Activities of Eleven *Centaurea* Species Occurring in the Carpathian Basin. *PHYTOTHERAPY RESEARCH* 2012; 10,1002: 4754.
24. Rustaiyn A Niknejad A Aynehchi Y. Chemical Constituents of *Centaurea Bruguierana*, *Planta Med* 1982; 44: 185-186
25. Harraz FM, Kassem FF, Elshaer NS. Sesquiterpene Lactones and Flavonoids from *Centaurea Bruguierana*. *Alex J Pharm Sci* 1994; 8: 219-222
26. Tian S. Total Polyphenolic (Flavonoids) Content and Antioxidant Capacity of Different *Ziziphora Clinopodioides* Lam. Extracts. *Pharmacogn Mag* 2011; 7(25): 65-8.
27. Thirugnanasambantham P Viswanathan S Ramaswamy S Krishnamurthy V Iyengar Mythirayee C Ramachandran S Kameswaran L. Involvement of Calcium in Flavonoid Analgesia. *European Journal of Pharmacology* 1988; 152: 367-369.
28. Kim H P. Son K H Chang H W. Kang S S. Anti-Inflammatory Plant Flavonoids and Cellular Action Mechanisms. *Journal of Pharmacological Sciences* 2004; 96: 229-245.
29. Payan DC Katzung BG. *Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs; Nonopioid Analgesics, Drugs Used in Gout*. Philadelphia; Appleton & Lang 1992; 491-512.
30. Krianac-Bengez L Boranic M Testa NG. Naloxone Behaves as Opioid Agonist/antagonist in Clonal Cultures of Mouse Bone Marrow Cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 1995; 27-31

Investigating the Antinociception and Anti-inflammatory Effects of Ethyl Acetate Fraction of the *Centaurea bruguierana* ssp. *belangerana* in Male Rats

Kiakojoori Sh.(MSc)-*Nasri S.(MD)- Amin Gh.(MD)

*Corresponding Address: Department of Biology, Faculty of Science, payanenoor University, Tehran, Iran

Email: s_nasri2000@yahoo.com

Received: 23 Apr/2013 Accepted: 12 Jan/2014

Abstract

Introduction: In recent years, investigations on various species of the genus *Centaurea* have shown that its extract or secondary metabolites has various pharmacological effects including anti-inflammatory, antinociception, Cytotoxic and etc.

Objective: The aim of this study was to investigate the antinociception, and anti-inflammatory effects of Ethyl acetate fraction of fruit plants Badavard (*Centaurea bruguierana* ssp. *blangerana*) on male rats.

Materials and Methods: Different parts of the plant Badavrd were collected from Bushehr, then, powdered and solved by ethanol and then, Ethanol extract was Fractioned. Antinociceptive effects of ethyl acetate fraction was examined by formalin test and tail immersion test and anti-inflammatory effects of xylene test in male rats of NMRI. The rats were divided into 6 groups of 8, including negative control, positive control, and 4 experimental groups. Experimental groups were injected intraperitoneally by 100, 200, 400 and 800 mg/kg of Ethyl acetate fraction. Normal data were analyzed using Anova and post hoc TUKEY test and non-normal data, were analyzed using Kolmogrov-smirnov and Mann-whitney test.

Results: In the formalin test, ethylacetate fraction showed a significant difference ($P<.001$) in the control group at all doses. The hot water tail immersion test, ethylacetate fraction at dose 100 at times t0, t1, t2 indicated significant differences ($P<.005$ and at time t3 showed significant differences ($P<.01$), at doses 200 and 800 at time t0 significant differences ($P<.01$) and s at times t1, t2, t3 significant differences ($P<.001$) in the control group at all doses, at dose 400 at times t0,t1 significant differences ($P<.05$) were observed and at times t3, t4 significant differences ($P<.05$) in the control group .at all doses were seen Test, xylene, ethyl acetate fraction showed a significant difference ($P<.01$) or the control group at all doses. Naloxone inhibited the antinociceptive effects of ethyl acetate fraction in the acute phase, but had no effect on chronic phase.

Conclusions: Analgesic and anti-inflammatory effects of ethyl acetate fraction can be attributed to the Sesquiterpenelacton and flavonoids. These compounds relieve nociception and inflammation by inhibition of inflammatory mediators.

Conflict of interest: non declared

Key words: Antipain/ centaurea/ Inflammation

Journal of Guilan University of Medical Sciences, No: 90, Pages: 64-71

Please cite this article as: Kiakojoori Sh, Nasri S, Amin Gh. Investigating the Antinociception and Anti-inflammatory Effects of Ethyl Acetate Fraction of the *Centaurea bruguierana* ssp *belangerana* in Male Rats. J of Guilan University of Med Sci 2014; 23(90):64-71 [Text in Persian]