



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان  
دانشکده داروسازی و علوم دارویی

پایان نامه دکترای عمومی داروسازی

عنوان پایان نامه:

بررسی اثر ضدالتهابی عصاره‌ی متانولی زالاک (*Crataegus Meyeri*) بر  
روی سلول‌های ماکروفاژ موشی J774A.1 تحریک شده با لیپوپلی ساکارید

توسط:

سهیلا مهدوی یکتا

اساتید راهنما:

سرکار خانم دکتر میترا مهربانی  
آقای دکتر سید نورالدین نعمت‌اللهی  
سرکار خانم دکتر مهرناز مهربانی



**Kerman University of Medical Sciences  
Faculty of Pharmacy**

**Pharm.D Thesis**

**Title:**

**Evaluation of the anti-inflammatory effect of *Crataegus  
Meyeri* methanolic extract on murine macrophages J774A.1  
stimulated with LPS**

**By:**

**Soheila Mahdavi Yekta**

**Supervisors:**

**Dr. Mitra Mehrabani**

**Dr. Seyed Nooroddin Nematollahi**

**Dr. Mehrnaz Mehrabani**

**Thesis NO : 949**

**December 2017**

## خلاصه فارسی

مقدمه: در بسیاری از موارد درمان التهاب با داروهای ضد التهابی غیراستروئیدی، کورتیکواستروئیدها و ضد دردها باعث ایجاد عوارض جانبی متعددی از قبیل ناراحتی معده، واکنش‌های حساسیتی، زخم معده و افزایش حساسیت به عفونت می‌شود. اخیراً مطالعات متعددی اثرات ضد التهابی مواد طبیعی با عوارض جانبی پایین تر را ارزیابی کرده‌اند. گیاهان به طور بالقوه برای مداخلات درمانی در بیماری‌های التهابی مختلف، مورد توجه هستند. بنابراین زمان آن فرا رسیده است تا گیاهان را به عنوان درمان‌های جایگزین خوب در بیماری‌های التهابی بررسی کنیم. زالزالک (*Crataegus Meyei*) یکی از مهمترین گیاهان دارویی در ایران است و اثرات درمانی برگ‌های آن برای بسیاری از بیماری‌ها شناخته شده است. بنابراین هدف مطالعه حال حاضر بررسی اثر ضدالتهابی عصاره *Crataegus Meyeri* بر روی سلول‌های ماکروفاژ موشی J774A.1 است.

روش کار: عصاره متانولی کراتاگوس مه یری (MCME) از برگ‌های خشک شده آن تهیه شد. در مرحله اول غلظت غیر سمی عصاره گیاه بر روی سلول‌های ماکروفاژ موشی J774A.1 با استفاده از روش MTT در دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت تعیین شد. سپس سلول‌ها با غلظت‌های مختلف لیپوپلی ساکارید (۱۵-۰ میکروگرم بر سی سی) مجاورت داده شدند و بهترین غلظت لیپوپلی ساکارید بر اساس تولید نیتریک‌اکساید توسط سلول‌ها با استفاده از آزمایش گریس مشخص شد. در ادامه اثر بازدارنده بهترین غلظت عصاره بر تولید نیتریک‌اکساید و افزایش بیان ژن COX 2 ناشی از لیپوپلی- ساکارید به ترتیب با استفاده از آزمایش گریس و Real-Time PCR مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: عصاره متانولی کراتاگوس مه بیری در غلظت‌های کمتر از ۱۲۵ و ۶۲ میکروگرم در میلی لیتر به ترتیب در ۲۴ و ۴۸ ساعت برای ماکروفازهای موشی J774A.1 غیر سمی بود. غلظت ۵ میکروگرم لیپوپلی ساکارید به طور معناداری ترشح نیتریک اکساید را بالا برد و در مراحل بعدی به عنوان بهترین غلظت تحریکی انتخاب شد. عصاره در غلظت‌های ۶۲ و ۱۲۵ میکروگرم در میلی لیتر در ۲۴ ساعت به طور معنادار تولید نیتریک اکساید را در سلول‌های موشی J774A.1 تحریک شده با لیپوپلی ساکارید کاهش داد. عصاره توانست بیان ژن COX-2 در سلول‌های موشی J774A.1 تحریک شده با لیپوپلی ساکارید در غلظت‌های ۱۲۵ و ۶۲ میکروگرم در میلی لیتر در ۲۴ ساعت و ۶۲ میکروگرم در میلی لیتر در ۴۸ ساعت را به طور معنادار کاهش دهد.

نتیجه گیری: این نتایج نشان می دهد که عصاره زالزالک ممکن است برای درمان بیماری‌های التهابی ناشی از فعال‌سازی ماکروفازها، اثرات بالقوه درمانی داشته باشد.

کلمات کلیدی: ماکروفازهای موشی J774A.1 ، لیپوپلی ساکارید، ضدالتهاب، سیکلوآکسیژناز ۲،

نیتریک اکساید

## English Abstract

**Introduction:** In many cases, treating inflammation with non-steroidal anti-inflammatory drugs, corticosteroid and analgesics results in several side effects such as gastric discomfort, hypersensitivity reactions, gastric erosion, and increased susceptibility to infection. Recently, numerous studies have evaluated the anti-inflammatory effect of natural substances with lower side effects. Plants are potentially interesting for therapeutic interventions in various inflammatory diseases. Therefore, it is time to consider plants as good substitute to treatment inflammatory diseases. *Crataegus Meyeri* is one of the most important medicinal plants in Iran and its leaves are known for curative effects on many diseases. Hence, the aim of current study was to investigate the anti-inflammatory effect of *Crataegus Meyeri* on murine macrophages J774A.1.

**Methods:** Methanol extract of *Crataegus Meyeri* (MCME) was prepared from dried leaves. Firstly, the non toxic concentration of MCM extract on murine macrophages J774A.1 was determined at 24 and 48 h by MTT assay. Then, cells were exposed to LPS at different concentrations (0- 15  $\mu\text{g/ml}$ ) and the optimum concentration was determined based on NO production by cells using Griess reaction. At following, the inhibitory effect of MCM extract on LPS-induced nitric oxide (NO) production and expression of COX-2 gene was examined using Griess reagent and Real-Time PCR respectively.

**Results:** MCME at concentrations lower than 125 and 62  $\mu\text{g/ml}$  were non toxic for murine macrophages J774A.1 at 24 and 48 h , respectively. LPS at concentration of 5  $\mu\text{g/ml}$  significantly induced NO production by cells so that it was selected as optimum stimulative concentration at next steps. MCME at concentrations of 62  $\mu\text{g/ml}$  and 125  $\mu\text{g/ml}$  at 24 h significantly reduced the production of NO in LPS-stimulated murine macrophages J774A.1 cells. MCME could significantly reduced expression of COX2 at 24 h at concentration of 125  $\mu\text{g/ml}$  and 62  $\mu\text{g/ml}$  and at 48 h at concentration of 62  $\mu\text{g/ml}$  in a concentration manner in LPS-stimulated murine macrophages J774A.1 cells.

**Conclusions:** These results suggest that MCME may offer therapeutic potential for treating inflammatory diseases accompanied by macrophage activation.

**Keywords:** Murine macrophages J774A.1, LPS, anti-inflammation, COX2, NO



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان  
دانشکده داروسازی

پایان نامه خانم سهیلا مهدوی یکتا دانشجوی داروسازی ورودی ۹۰ به شماره ۹۴۹

تحت عنوان:

"بررسی اثر ضد التهابی عصاره های متانولی زالزالک (*Crataegus meyeri*) بر روی سلول های ماکروفاژ

موشی J774A.1 تحریک شده با لیپوپولی ساکارید"

اساتید راهنما:

۱- دکتر میترا مهربانی

۲- دکتر مهراناز مهربانی

۳- دکتر نورالدین نعمت اللهی

هیئت محترم داوران به ترتیب حروف الفبا:

۱- دکتر حمیدرضا رحیمی

۲- دکتر فریبا شریفی فر

۳- دکتر صالحه صبوری

۴- دکتر حمید فروتن فر

در تاریخ ۹۶/۱۰/۶ مورد ارزیابی قرار گرفت و با نمره (با عدد) ..... ۱۹/۵۰ .....  
(با حروف) ..... نود و پنج و پنجاه و سه ..... به تصویب رسید.

۹۶/۱۰/۱۰  
دکتر یعقوب پورشجاعی

رئیس اداره پایان نامه

دکتر محمودرضا حیدری

رئیس دانشکده

