



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

پایان نامه دکترای عمومی داروسازی

عنوان:

بررسی اثر ضدالتهابی عصاره مورخش بر روی سلول‌های ماکروفاژ
موشی J774A.1 تحریک شده با لیپوپلی ساکارید

توسط:

زینب آب آذرسا

اساتید راهنما:

دکتر میترا مهربانی

دکتر سیدنورالدین نعمت‌الهی

دکتر مهرناز مهربانی



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

Pharm. D Thesis

Title:

**Evaluation the anti-inflammatory effect of *Zhumeria majdae* extract
on Lipopolysaccharide (LPS) - stimulated murine macrophage
J774A.1**

By:

Zeynab Ab Azarsa

Supervisors:

Dr. Mitra Mehrabani

Dr. Seyed Noraldin Nematoalahi

Dr. Mehrnaz Mehrabani

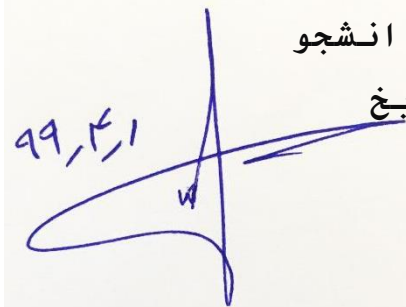
Summer 2020

Thesis No: 1182

اظهارنامه و حق انتشار

اینجانب زینب آب آذرسا متعهد می‌شوم موارد مذکور در این پایان‌نامه حاصل فعالیت‌های پژوهشی خود بوده و مسئولیت صحت داده‌ها و اطلاعات گزارش شده در این پایان‌نامه را به عهده می‌گیرم. تمامی حقوق مادی و معنوی این پایان‌نامه متعلق به دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان بوده و هر گونه استفاده تنها با کسب اجازه ممکن خواهد بود. استناد به مطالب و نتایج این پایان‌نامه در صورتی که به نحو مناسبی ارجاع داده شود، بلامانع است.

امضاء دانشجو
تاریخ
۹۹،۴،۱



خلاصه فارسی

مقدمه: التهاب بخشی از مکانیسم دفاعی بدن است. فرایندی است که توسط آن سیستم ایمنی بدن محرک‌های مضر را تشخیص داده و از بین می‌برد و روند بهبودی را آغاز می‌کند. التهاب مزمن سبب بیشتر بیماری‌های مزمن است و تهدیدی بزرگ برای سلامتی افراد به شمار می‌رود. تاکنون داروهای ضدالتهاب بسیاری تولید شده‌اند؛ ولی به‌هرحال هر یک از این داروها دارای برخی از عوارض جانبی هستند. از طرفی داروهای گیاهی با ایمنی و کارآیی قابل‌قبول به عنوان جایگزینی مناسب برای داروهای شیمیایی مطرح شده‌اند. مورخش یکی از مهم‌ترین داروهای گیاهی است که از ساقه و برگ آن برای اهداف پزشکی در ایران استفاده می‌شود. در مطالعه حال حاضر مقرر شد اثر این گیاه روی بیان دو ژن مهم دخیل در التهاب در سلول‌های ماکروفاژ موشی J774A.1 مورد بررسی قرار داده شود.

روش‌ها: در مرحله اول عصاره گیاه مورخش با متانول ۸۰ درصد گرفته شد. اثر سمیت سلولی عصاره در غلظت‌های ۷/۵-۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و زمان ۲۴ ساعت بر روی سلول‌های ماکروفاژ موشی J774A.1 با روش MTT تعیین شد. سپس سلول‌ها در مجاورت لیپوپلی‌ساکارید در غلظت ۵ نانوگرم در میلی‌لیتر و غلظت‌های غیرسمی عصاره قرار داده شدند و اثرات مهاریه عصاره بر بیان ژن سیکلو‌اکسیژناز-۲ (COX-2) و ژن القایی نیتریک اکسید سنتاز (iNOS) با استفاده از Real-Time PCR مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: نتایج MTT نشان داد که عصاره در غلظت بیشتر ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر در زمان ۲۴ ساعت به‌طور معناداری زنده ماندن سلول‌ها را کاهش می‌دهد. همچنین عصاره توانایی کاهش معنادار

دو ژن التهابی COX-2 و iNOS در سلول‌های ماکروفاژ موشی را پس از طی زمان ۲۴ ساعت در غلظت ۱۲۵ و ۶۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر را ندارد.

نتیجه‌گیری: با توجه به عدم مهار دوژن التهابی در زمان ۲۴ ساعت توسط عصاره مورخس، احتمالاً اثرات ضدالتهابی آنکه در مطالعات گذشته به اثبات رسیده است مربوط به مهار سایر مسیرهای سیگنالینگ دخیل در التهاب است.

کلمات کلیدی: مورخس، ماکروفاژهای موشی J774A.1، لیپوپلی ساکارید، ضدالتهاب، COX-2.

iNOS

Abstract

Introduction: Inflammation is part of the body's defense mechanism. It is the process by which the immune system recognizes and removes harmful stimuli and begins the healing process. Chronic inflammation may cause most chronic diseases and presents a major threat to the health of individuals. Up to now, many of the anti-inflammation drugs have been developed, However, synthetic anti-inflammatory drugs show different levels of toxicity and side effects. Otherwise, herbal medicines are considered a suitable substitute for synthetic anti-inflammatory drugs stems from their less side effect and acceptable safety. *Zhumerai madjdae* is one of the most important herbal medicine which its stems and leaves have been used for medicinal purpose in Iran. This study aims to assess the effect of *Zhumerai madjdae* on the viability and expressions of two important inflammatory genes in mouse macrophages J774A.1 cells.

Methods: Firstly, the total extract of *Zhumerai madjdae* has been prepared using 80% methanol. At the next step, the toxicity effect of the extract on macrophages J774A.1 cells at concentrations of 7.5 µg/ml to 500 µg/ml after 24 hours was determined through MTT method. Then, cells were exposed to lipopolysaccharide at concentrations of 5 ng/ml and the non-toxic concentrations of extract to determine the inhibitory effect of the extract on the expression of cyclooxygenase2 (COX-2) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) genes through Real-Time PCR.

Results: The results of our study showed that extract at concentration $> 125 \mu\text{g/ml}$ significantly decreased the viability of cells. Furthermore, the extract could not diminish the expression of the COX-2 and iNOS genes at the concentrations of 62 and $125 \mu\text{g/ml}$ in J774A.1 cells after 24 hours.

Conclusion: Regarding the non-significant inhibitory effect of *Zhumerai madjdae* extract on the expression of inhibition of COX-2 and iNOS genes after 24 hours, Therefore, it can be concluded that anti-inflammatory effect of *Zhumerai madjdae* proved by previous studies may be related to other signaling pathways involved in the inflammatory process.

Keywords: *Zhumerai madjdae*, Mouse Macrophages J774A.1 Cells, Lipopolysaccharide, Antiinflammation, COX-2, iNOS.

منابع

- [1] Maleki N, Yousofvand N, Parandin R, Khanahmadi M. Anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of extract contains and without glycyrrhizic acid of rhizome in male mice. **J Shahrekord Uni Med Sci** 2017; 9(5): 71-183.
- [2] Ghasemian M, Owlia S, Owlia MB. Review of anti-inflammatory herbal medicines. **J Advances in pharm Sci.** 2016 May 10;2016.
- [۳] زرگری، ع. گیاهان داروئی. جلد چهارم. انتشارات دانشگاه تهران. ۱۳۹۰؛ ص ۴۰۱.
- [۴] هینز رک. ایرانیکا ف. لایبته. مجله طب سنتی اسلام و ایران. ویژه نامه زمستان ۱۳۹۵؛ ص ۴۷۹.
- [5] Asareh, Plants biodiversity of Iran. **IJFPR.** Iran. 1377; 60-134.
- [6] Bokhan M, Hedge I. *Zhumeria* (Labiatae): anatomy, taxonomy and affinities. **Iran J Botany** 1976;1:1-10.
- [7] Soltanipoor Ma. Morphometric study of the medicinal and endangered *Zhumeria majdae*. **Iran J Plant Res** 2018;31(1):142-55.
- [8] Majrouhi AA. Chemical composition of the leaf essential oil of *Zhumeria majdae* growing in South Iran. **J Chem Nat Compd** 2008;45(3):429-30.
- [9] Parcero D, Dulce D, Helfgot M. La Argentina exiliada, Centro Editor de América Latina, CEAL. **J Biblioteca Política Argentina.** 1985; 188.
- [۱۰] نادری غ، عسگری ص، آنی م، صراف زادگان ن، صفری م. بررسی تأثیر چند ترکیب فرار موجود در اسانس های گیاهی بر میزان تمایل LDL طبیعی و اکسید شده به گیرنده های مربوط در سطح سلول های آدرنال. فصلنامه گیاهان دارویی ۱۳۸۰؛ ۱ (۱): ۱۱-۱۸.
- [11] Rezaei M, Moradshahi A, Kholdebarin B, Barazandeh M. The comparison of constituents of essential oils of *Zhumeria majdae* Rech. f. & Wendelbo at flowering stages in various parts of Hormozgan province. **J Med Plants.** 2007; 1(21):42-7.

[۱۲] مجروحی، ع. بررسی تغییرات کمی و کیفی ترکیبات شیمیایی اسانس برگ گیاه دارویی

مورخوش (*Zhumeria majdae Rech F. & Wendelbo*) در مراحل مختلف رشد. **فصلنامه علمی**

پژوهشی گیاهان دارویی. ۲۰۰۹؛ ۴(۲۹):۱۰۷-۱۳.

[۱۳] عبدالمالکی آ، رجبی ع، سنگین آبادی ف. بررسی اثرات ضد درد و ضد التهابی عصاره آبی گیاه

نعناع. **مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان** ۱۳۹۲؛ ۱۸(۱):۶۷-۷۴.

[14] Ebrahimzadeh MA, Mahmoudi M, Saiednia S, Pourmorad F, Salimi E. Anti-inflammatory and anti-nociceptive properties of fractionated extracts in different parts of *Sambucus ebulus*. **J Mazandaran Uni Med Sci**. 2006; 16(54):35-47.

[15] Damya N, Khezri S, Abtahi Froushani M. Effect of Hydroalcoholic Extract of Saffron on the Functions of Rat Peritoneal Macrophages. **J Mazandaran Uni Med Sci**. 2018; 28(159):14-22.

[16] Heppner FL, Ransohoff RM, Becher B. Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. **J Nature Rev Neuroscience**. 2015; 16(6):358.

[17] Labonte AC, Tosello-Tramont A-C, Hahn YS. The role of macrophage polarization in infectious and inflammatory diseases. **J Molecules and Cells** 2014; ۳۷(۴):۲۷۵.

[18] Tripathi P, Tripathi P, Kashyap L, Singh V. The role of nitric oxide in inflammatory reactions. **J FEMS Immun Med Microbiol** 2007; 51(3):443-52.

[۱۹] ابراهیمی م، صادقی زاده م، نوری دلویی م. بیان ژن نیتریک اکسید سنتاز (iNOS) تحریک شده

به وسیله پراکسید هیدروژن در سلول‌های اندوتلیال انسان. **مجله علوم جمهوری اسلامی ایران**.

زمستان ۱۳۸۰؛ دوره ۱۳، شماره ۱.

[20] Oray M, Abu Samra K, Ebrahimiadib N, Meese H, Foster CS. Long-term side effects of glucocorticoids. **Expert Opinion Drug Safety** 2016; 15(4):457-65.

[21] Darras B, Urion D, Ghosh P. Dystrophinopathies GeneReview–Corticosteroid Therapy. **Corticosteroid Therapy in DMD** 2018.

[۲۲] هویزه ح، دیناروند م، صالحی ح. گیاهان دارویی خوزستان. دو ماهنامه تحقیقات گیاهان

دارویی و معطر ایران ۱۳۸۱؛ دوره ۱، شماره ۱۴.

[۲۳] صابر آملی س، نصیری ا، رحمانی غ، کالیراد ع. گیاهان دارویی استان کرمان. دو ماهنامه

تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۱۳۸۳؛ ۲۰(۴): ۵۳۲-۴۸۷.

[۲۴] موسوی ا. گیاهان دارویی استان زنجان. دو ماهنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران.

۱۳۸۳؛ ۲۰(۳): ۳۴۵-۳۶۸.

[۲۵] سرطاوی ک، غلامیان ف. گیاهان دارویی استان بوشهر. دو ماهنامه تحقیقات گیاهان دارویی و

معطر ایران ۱۳۸۳؛ ۲۰(۲): ۲۱۳-۲۲۷.

[۲۶] قاسمی دهکردی ن، سجادی ا، فنلادی ع، امن زاده ی، آزادبخت م، اصغری غ. فارماکوپه گیاهی

ایران. مجله حکیم. ۱۳۸۲؛ ۶(۳).

[۲۷] شریفی سلطانی م، عیدی ا، حائری روحانی س. بررسی اثر ضدالتهابی عصاره اتانولی گیاه

شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) در موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ نژاد NMRI.

فیزیولوژی و تکوین جانوری ۱۳۹۷؛ ۱۱(۳): ۱۵-۲۵.

[28] Mahdavi Maymand Z, Mirtajodin M. The collection and identification of the some plant species of Kerman province. **J Herb Drugs (An Intl J on Med Herbs)** 2010;

۱(۲): ۱-۲۴.

[29] Soltani poor M, Rezaei M, Moradshahi A, Kholdebarin B, Barzandeh M. The Comparison of Constituents of Essential Oils of *Zhumeria majdae* Rech. f. & Wendelbo at Flowering Stages in Various Parts of Hormozgan Province. **J Med Plant** 2007;

۶(۲۱): ۴۲-۴۷.

- [30] Aprotosoai AC, Hăncianu M, Costache II, Miron A. Linalool: a review on a key odorant molecule with valuable biological properties. **J Flavour and Fragrance** 2014; ۲۹(۴):۱۹۳-۲۱۹.
- [31] Ilic, Anja. Biological activities of selected mono-and sesquiterpenes. PhD diss. uni-wien, 2013. **BetreuerIn:** Buchbauer, Gerhard; 2013; 12-18.
- [32] Hosseinzadeh H, Ramezani M, Fadishei M, Mahmoudi M. Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Zhumeria majdae* extracts in mice and rats. **Phytomedicine** 2002; 9(2):135-41.
- [33] Miraghazadeh SG, Shafaroodi H, Asgarpanah J. Analgesic and anti-inflammatory activities of the essential oil of the unique plant *Zhumeria majdae*. **J Natl prds comm** ۲۰۱۵□۱۰(۴):۱۹۳۴-۱۹۳۶.
- [34] Imani Z, Asgarpanah J, Hashemi F, Hezaveh JH. Composition and antifungal activity of *Zhumeria majdae* essential oil. **J Current Medical Mycology** 2015; 1(4):13.
- [35] Amakura Y, Umino Y, Tsuji S, Ito H, Hatano T, Yoshida T, *et al.* Constituents and their antioxidative effects in eucalyptus leaf extract used as a natural food additive. **J Food Chemistry** 2002;77(1):47-56.
- [36] Caterina MJ, Rosen TA, Tominaga M, Brake AJ, Julius D. A capsaicin-receptor homologue with a high threshold for noxious heat. **J Nature** 1999; 398(6726):436.
- [37] Yattoo M, Gopalakrishnan A, Saxena A, Parray OR, Tufani NA, Chakraborty S, Tiwari R, Dhama K, Iqbal H. Anti-inflammatory drugs and herbs with special emphasis on herbal medicines for countering inflammatory diseases and disorders-a review. **Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov** 2018; 12(1):39-58.



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گرگان
دانشکده داروسازی

پایان نامه خانم زینب آب آدرسا دانشجوی داروسازی ورودی ۸۸ به شماره ۱۱۸۲

تحت عنوان:

"بررسی اثر ضد التهابی عصاره گیاه مورنش *Zhumeria majdae* بر سلولهای ماکروفاژ موشی

J774A.1 تحریک شده با لپوپولی ساکارید"

استاد (اساتید) راهنما:

۱- دکتر میترا مهریانی ۲- دکتر مهرناز مهریانی ۳- دکتر سید نورالدین نعمت الهی

استاد (اساتید) مشاور: -

هیئت محترم داوران:

۱- دکتر قریبا شریفی فر ۲- دکتر آزاده امین زاده

در تاریخ ۹۹/۰۴/۰۱ مورد ارزیابی قرار گرفت و با نمره (با عدد) ۱۹٫۵
(با حروف) نوزده و پنج به تصویب رسید.

دکتر مصطفی پورنامداری
رئیس اداره پایان نامه

محمد رضا نخعی
کارشناس اداره پایان نامه

۹۹، ۴، ۱

