

مقایسه اثر پیشگیری کننده عصاره آبی و هیدروالکلی اندام هوایی گیاه کرفس (*Apium graveolens*) بر التهاب ناشی از فرمالین در پنجه پای موش صحرایی نر

اردشیر ارضی^۱، ندا سیستانی کرم پور^{۲*}، همایون گراوند^۳

چکیده

زمینه و هدف: عوارض گوارشی ناشی از کاربرد داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی موجب افزایش توجه محققان به گیاهان دارویی با اثر ضد التهاب شده است. هدف از انجام این مطالعه مقایسه اثر ضد التهاب عصاره هیدروالکلی و آبی گیاه کرفس با آسپیرین بر التهاب ناشی از تزریق فرمالین در پنجه پای موش صحرایی است. روش بررسی: در این مطالعه از موشهای صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۱۵۰-۱۸۰ گرم استفاده شد. جهت تهیه عصاره هیدروالکلی از اتانول ۷۰٪ و روش خیساندن استفاده گردید و جهت تهیه عصاره آبی از آب مقطر و روش خیساندن استفاده شد. حیوانات به ۱۱ گروه تقسیم شدند (n=۶). گروه کنترل منفی ۵ ml/kg نرمال سالین و گروه کنترل مثبت ۳۰۰ mg/kg آسپیرین دریافت نمودند. گروه های تحت آزمایش به ترتیب دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ mg/kg از عصاره هیدروالکلی و دوزهای ۸۰۰، ۶۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰ mg/kg از عصاره آبی گیاه کرفس را به شکل داخل صفاقی دریافت کردند. ۳۰ دقیقه بعد همهی گروهها ۱۰۰ میکرولیتر فرمالین ۲٪ را از طریق زیرجلدی دریافت نمودند. سپس تغییر حجم پای موش ها هر یک ساعت یک بار به مدت ۵ ساعت با استفاده از دستگاه plethysmometer سنجش گردید.

یافته‌ها: همهی گروههای تحت تجویز عصاره‌های هیدروالکلی در مقایسه با گروه کنترل منفی اختلاف معنی دار نشان دادند (P<۰/۰۵). دوز های ۲۰۰ و ۱۰۰ mg/kg از عصاره در تمام طول مطالعه اثر کمتری نسبت به آسپیرین نشان دادند. ولی بین گروه های دریافت کننده دوزهای ۶۰۰ و ۴۰۰ mg/kg با آسپیرین اختلاف معنی دار وجود نداشت. بنابراین دوز ۴۰۰ mg/kg عصاره به عنوان مطلوبترین دوز انتخاب شد. همهی گروههای تحت تجویز عصاره‌های آبی در مقایسه با گروه کنترل منفی اختلاف معنی داری نشان دادند به جز دوز ۱۰۰ mg/kg. دوزهای ۴۰۰ و ۲۰۰ mg/kg در تمام طول مطالعه اثر کمتری نسبت به آسپیرین داشتند. ولی بین گروههای دریافت کننده دوزهای ۸۰۰ و ۶۰۰ mg/kg و آسپیرین اختلاف معنی دار وجود نداشت. بنابراین دوز ۶۰۰ mg/kg عصاره به عنوان مطلوبترین دوز انتخاب شد.

نتیجه‌گیری: عصاره های هیدروالکلی و آبی موجب کاهش ادم در پنجه ی پا در موش های صحرایی شد که در این رابطه دوز ۴۰۰ mg/kg عصاره ی هیدروالکلی و دوز ۶۰۰ mg/kg عصاره آبی اثری در حد آسپیرین داشتند.

کلید واژگان: کرفس، آسپیرین، فرمالین، عصاره‌ی هیدروالکلی و آبی، التهاب، موش صحرایی.

۱-استاد گروه فارماکولوژی و سم شناسی.

۲-استادیار گروه فارماکولوژی.

۳-دانشجو داروسازی.

۱- گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.

۲- گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.

۳- دانشکده داروسازی، مرکز تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.

*نویسنده مسؤول:

ندا سیستانی کرم پور؛ گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.

تلفن: ۰۰۹۸۹۱۶۳۱۳۴۴۵۱

Email: N.sistani1386@yahoo.com

مقدمه

سیستم ایمنی، بدن انسان را از طریق گلبول‌های سفید و مواد آزاد شده از آنها در مقابل عوامل پاتوژن محافظت می‌کند. فرایند تجمع گلبول‌های سفید و آزاد شدن مواد شیمیایی مترشحه از آنها به شکل التهاب بروز می‌یابد؛ به عبارت دیگر التهاب حاصل فعال شدن سیستم ایمنی در برابر عفونت و تحریک بافتی می‌باشد. بر اثر التهاب قرمزی، گرمی، تورم، درد و از دست رفتن فعالیت عادی بافت درگیر رخ می‌دهد که این خود می‌تواند زمینه‌ساز بیماری‌های مختلفی من جمله سینوزیت، رینیت و آسم باشد (۱ و ۲).

یکی از متداول‌ترین روش‌های موجود جهت درمان التهاب‌های ناشی از بیماری‌های مختلف، کاربرد داروهای ضد التهابی غیراستروئیدی است. از آنجایی که اکثر داروهای این گروه موجب بروز آثار جانبی متعددی از جمله گوارشی و خونی می‌گردند (۴۵)، لذا کاربرد گیاهان دارویی ضد التهاب که فاقد چنین آثار سویی باشند می‌تواند جایگاه ویژه‌ای در درمان داشته باشد.

گیاه کرفس با نام علمی *Apium graveolens* از تیره *Apiaceae* و خانواده ی چتریان (*Apiaceae*) است. این گیاه دو ساله بوده و حداکثر طول آن ۱۰۰ سانتی متر است. میوه ی رسیده ی این گیاه بیضوی شکل و به رنگ قهوه‌ای است. گیاه کرفس رایحه‌ای قوی داشته و مزه ای متمایل به تلخ دارد (۳).

میوه‌های کرفس در ماه‌های مرداد و شهریور به حداکثر رشد رسیده و قابل جمع‌آوری هستند. گرد میوه ی کرفس و خود گیاه کرفس به رنگ قهوه‌ای تیره بوده و با بوی مخصوصی همراه است (۴).

منشا گیاه کرفس جنوب اروپاست ولی این گیاه در تمام دنیا کشت می‌شود. گیاه کرفس در ایران در مناطق مختلف از جمله در استان‌های خوزستان، سمنان و سیستان و بلوچستان کشت می‌شود (۵).

کرفس از جمله گیاهانی است که خاصیت آنتی اکسیدانی دارد و با این خاصیت از تشکیل رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کند (۶). آثار مختلف فیزیولوژیکی مانند ضدسرطان (۸)، کاهنده‌ی چربی خون (۹ و ۱۰) حفاظت

کبدی در برابر اکسیدان‌ها (۱۱) به آن نسبت داده شده است. دانه کرفس حاوی ترکیبات آنتی اکسیدان بوده (۱۲) و اثرات ضد سرطان آن مربوط به ماده فالفکارینول (*Falcarinol*) است که فعال‌ترین ترکیب سیتوتوکسیک و جزء پلی‌استیلن‌ها می‌باشد (۱۳).

کرفس دارای اسانس (لیمونن، فئالدهید و بتاسلنن)، کومارین (فورانو کومارین و برگاپتن) و ترکیب فلاونوئیدی به نام آپی بین می‌باشد (۱۴ و ۱۵). درصد لیمونن در اسانس کرفس ۶۰٪ و مقدار بتا سلنن آن به ۱۰٪ می‌رسد. از جمله دیگر اسانس‌های گیاه کرفس می‌توان پارا سمین، بتا پی‌نن، بتاتریپینول، آلفا سالتالول، N_ بوتیل فئالدهید، سدالونید، اوستنول، آپیگراوین و آپيومتین را نام برد (۱۶).

اندام‌های هوایی کرفس به علت دارا بودن درصد بالای اسانس، خاصیت ضد اسپاسمی داشته و بعضی از کومارین‌های موجود در میوه گیاه از جمله فورانو کومارین و برگاپتن دارای خاصیت آرامبخش هستند (۱۵).

احمدی و همکاران (۲۰۰۷) بیان داشتند که عصاره ی متانولی گیاه کرفس دارای اثر آنتی اکسیدانی بیشتر از آلفا توکوفرول سنتتیک است و اثر ضعیف‌تری نسبت به آسکوربیک اسید دارد (۱۷).

نصری و همکاران (۲۰۰۸) مشاهده کردند که عصاره ی هیدروالکلی گیاه کرفس دارای اثر ضد درد می‌باشد (۱۸).

با توجه به آنچه گفته شد در این مطالعه اثر عصاره آبی و هیدروالکلی گیاه کرفس بر روی التهاب ناشی از تزریق فرمالین در کف پنجه پای موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

در این بررسی از اندام هوایی گیاه کرفس (تهیه شده از مزارع کشاورزی شهرستان دزفول و تایید شده توسط گروه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی اهواز)، فرمالین، پودر آسپیرین (تهیه شده از شرکت دارو پخش)، اتانول

نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تهیه گردید. موش‌های صحرایی در اتاق حیوانات دانشکده داروسازی اهواز در دمای 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد و میزان رطوبت ۵۰٪ و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. حیوانات در طول مطالعه به غذای فشرده مخصوص حیوان (تهیه شده از خوراک دام شوستر) و آب لوله کشی شهر دسترسی کامل داشتند.

آزمایش‌ها در محیطی آرام و دور از سر و صدا صورت پذیرفتند. موش‌های صحرایی یک ساعت قبل از اجرای آزمایش به آزمایشگاه آورده شدند تا با شرایط موجود آشنا شوند. ضمناً از هر موش صحرایی فقط یک بار استفاده شد. جهت انجام مطالعه، موش‌ها پس از انتخاب و توزین به صورت تصادفی به ۱۱ گروه (هر گروه حاوی ۶ موش صحرایی) تقسیم شدند و پس از شماره‌گذاری به صورت زیر تحت تجویز قرار گرفتند:

به گروه‌های تحت مطالعه عصاره هیدروالکلی به ترتیب دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی کرفس و به گروه‌های تحت مطالعه عصاره آبی به ترتیب دوزهای ۸۰۰، ۶۰۰، ۴۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی و به موش‌های گروه کنترل منفی حجم معادل سرم فیزیولوژی (۵ میلی لیتر بر کیلوگرم) و به موش‌های گروه کنترل مثبت آسپیرین (۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) از طریق داخل صفاقی تزریق شد. بعد از نیم ساعت به کف پنجه پای موش‌های صحرایی گروه‌های مختلف مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۲/۵٪ فرمالین از طریق زیرجلدی تزریق شد و تغییر حجم پنجه پا هر یک ساعت یک بار و به مدت ۵ ساعت متوالی با استفاده از دستگاه *Plethysmometer* اندازه‌گیری شد. به دلیل تغییرات حجم سریع پنجه‌ی پای موش‌ها در ساعت اول بعد از تزریق فرمالین، سنجش التهاب در ساعت اول هر ۱۵ دقیقه یکبار انجام شد و برآیند آن‌ها به عنوان میزان حجم در ساعت اول درج گردید. قبل از تزریق فرمالین حجم پنجه‌ی پای موش‌های صحرایی گروه‌های مختلف اندازه-

۹۶٪ (ساخت کارخانه الکل‌سازی خرمشهر) آب مقطر و سرم فیزیولوژی (شرکت داروپخش) استفاده شد.

جهت تهیه‌ی عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه کرفس از روش خیساندن با اتانول ۷۰٪ استفاده شد. ابتدا اندام هوایی گیاه کرفس با آسیاب برقی خرد گردید. ۲۵۰ گرم از گیاه خرد شده را در ظرفی قرار داده و به آن اتانول ۷۰٪ افزوده شد؛ پس از پوشاندن سطح ظرف با کاغذ سلفونی مخلوط حاصله به مدت ۷۲ ساعت نگهداری و در طول این مدت روزی چند بار هم زده شد. پس از پایان ۷۲ ساعت، عصاره صاف و در ظرف مناسبی ریخته، و تفاله‌ها مجدداً با الکل ۷۰٪ شستشو داده شده و عصاره‌ی حاصل پس از صاف شدن به عصاره‌ی قبلی اضافه گردید.

عصاره‌ی به دست آمده توسط دستگاه تبخیر در خلاء دوار تغلیظ و محصول حاصل در فور با درجه حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. عصاره خشک پس از توزین ۴۹ گرم وزن داشت (معادل ۱۹/۶٪ وزنی/وزنی) که آن را در یک ظرف مناسب ریخته و در یخچال نگهداری شد.

جهت تهیه‌ی عصاره‌ی آبی گیاه کرفس از روش خیساندن با آب مقطر استفاده شد. ابتدا اندام هوایی گیاه کرفس با آسیاب برقی خرد گردید. ۲۵۰ گرم از گیاه خرد شده را در ظرفی قرار داده و به آن آب مقطر افزوده شد؛ پس از پوشاندن سطح ظرف با کاغذ سلفونی مخلوط حاصله به مدت ۷۲ ساعت نگهداری و در طول این مدت روزی چند بار هم زده شد. پس از پایان ۷۲ ساعت، عصاره صاف و در ظرف مناسبی جمع‌آوری گردید و عصاره‌ی به دست آمده توسط دستگاه تبخیر در خلاء دوار تغلیظ و محصول حاصل در فور با درجه حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. عصاره خشک پس از توزین ۴۴ گرم وزن داشت (معادل ۱۷/۶٪ وزنی/وزنی) که آن را در یک ظرف مناسب ریخته و در یخچال نگهداری شد.

گروه‌بندی حیوانات و سنجش التهاب: در این

مطالعه ۶۶ موش صحرایی نر جوان از گونه ویستار با محدوده‌ی وزنی ۱۵۰-۱۸۰ گرم از مرکز تکثیر و

میلی گرم بر کیلوگرم در مقایسه با آسپیرین تفاوت معنی-داری با آسپیرین نداشت (نمودار ۱).

مقایسه نتایج حاصل از اثر دوزهای ۸۰۰، ۶۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره آبی کرفس، نشان می‌دهد که این اثر معنی‌دار بوده و همچنین وابسته به دوز می‌باشد. در ضمن بین دوزهای ۸۰۰ و ۶۰۰ میلی-گرم بر کیلوگرم عصاره تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد و بدین ترتیب دوز ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم موثرترین دوز شناخته شد (نمودار ۳ و ۱).

در مقایسه دوز ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره آبی و دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی با آسپیرین، تفاوت معنی‌داری بین اثر ضد التهاب آنها در تمام ساعات مطالعه مشاهده نشد (نمودار ۲).

نتایج حاصل از مقایسه اثر ضد التهابی دوزهای مختلف عصاره آبی گیاه کرفس (نمودار ۳) بدین شرح است:

اثر ضد التهاب دوزهای ۴۰۰، ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره آبی در تمام ساعات بعد از تزریق فرمالین در مقایسه با دوزهای ۸۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره به طور معنی‌داری ($P < 0/05$) کمتر بود.

اثر ضد التهاب دوزهای ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره آبی در تمام ساعات بعد از تزریق فرمالین در مقایسه با دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره به طور معنی‌داری ($P < 0/05$) کمتر بود.

اثر ضد التهاب دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره آبی در تمام ساعات بعد از تزریق فرمالین در مقایسه با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره به طور معنی‌داری ($P < 0/05$) کمتر بود.

اثر ضد التهاب دوز ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره آبی در تمام ساعات بعد از تزریق فرمالین در مقایسه با دوز ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره تفاوت معنی‌داری نداشت.

گیری شد و مقدار آن به عنوان حجم پا در زمان صفر محسوب گردید (۲۰ و ۱۹).

در این مطالعه جهت محاسبه درصد ادم پنجه‌ی پای موش‌های صحرائی از فرمول زیر استفاده شد:

$$Relative Paw Edema\% = \frac{V_2 - V_1}{V_1} \times 100$$

V1 : حجم پنجه پای موش‌های صحرائی قبل از

تزریق فرمالین

V2 : حجم پنجه پای موش‌های صحرائی بعد از

تزریق فرمالین

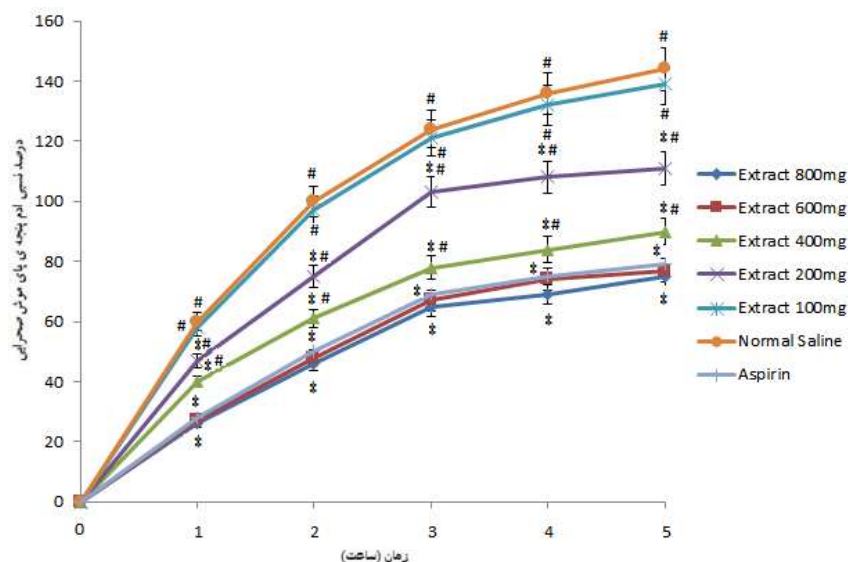
برای مقایسه اثر ضد التهابی عصاره از آزمون مدل خطی و روش آماری ANOVA و تست کمکی توکی استفاده شد.

یافته‌ها

اثر ضد التهابی دوزهای مختلف عصاره با گروه‌های کنترل منفی (سرم فیزیولوژی) و کنترل مثبت (آسپیرین) مقایسه شد. طبق نتایج به دست آمده عصاره آبی و هیدروالکلی اندام هوایی گیاه کرفس دارای اثر ضد التهاب بوده که این اثر وابسته به دوز می‌باشد.

مقایسه اثر عصاره آبی گیاه کرفس با دوز ۸۰۰، ۶۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم با گروه دریافت کننده سرم فیزیولوژی نشان داد که، اثر ضد التهابی عصاره گیاه کرفس در تمامی دوزها بجز دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به طور معنی‌داری ($P < 0/05$) بیشتر از سرم فیزیولوژی می‌باشد (نمودار ۱).

مقایسه اثر عصاره آبی گیاه کرفس با دوز ۲۰۰، ۴۰۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه دریافت کننده آسپیرین (300 mg/kg) نشان داد که اثر ضد التهاب عصاره گیاه کرفس به طور معنی‌داری ($P < 0/05$) کمتر از آسپیرین می‌باشد (نمودار ۵). در حالی که اثر ضد التهاب عصاره ی هیدروالکلی گیاه کرفس با دوزهای ۸۰۰ و ۶۰۰

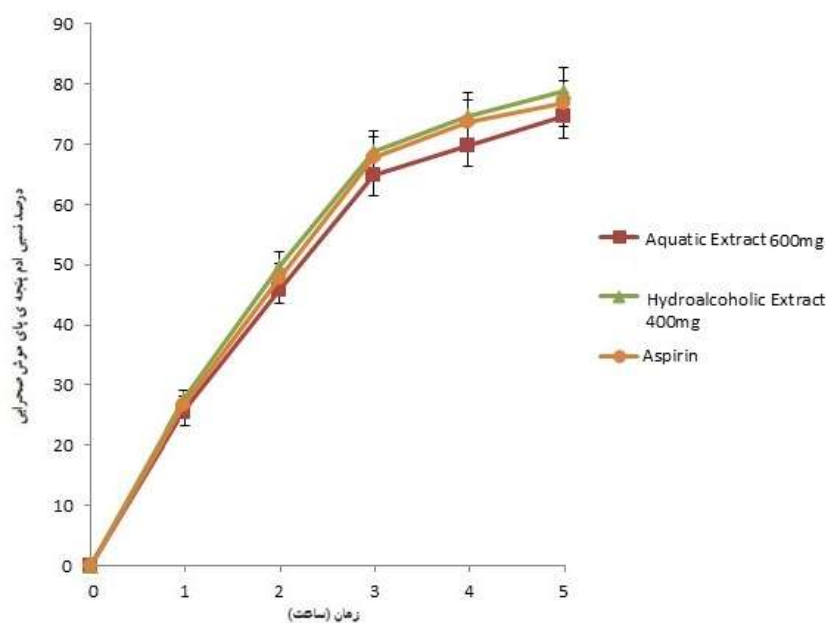


نمودار ۱: مقایسه اثر دوزهای ۸۰۰mg/kg، ۶۰۰mg/kg، ۴۰۰mg/kg، ۲۰۰mg/kg و ۱۰۰mg/kg عصاره آبی گیاه کرفس با آسپیرین ۳۰۰mg/kg و نرمال سالین (۵ml/kg) بر ادم ایجاد شده ناشی از تزریق زیر جلدی فرمالین در پنجه پای موش صحرائی. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ سر می باشد.

داده ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد نشان داده شده است. روش آماری آنالیز واریانس یکطرفه (one way-ANOVA) و تست کمکی توکی استفاده گردید.

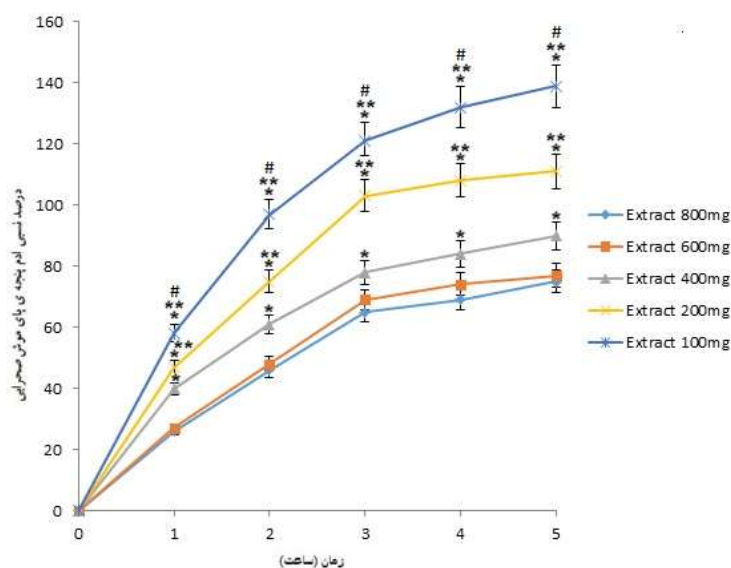
* تفاوت با گروه دریافت کننده سرم فیزیولوژی (۵ ml/kg) معنی دار است ($P < 0.05$).

تفاوت با گروه دریافت کننده آسپیرین ۳۰۰mg/kg معنی دار است ($P < 0.05$).



نمودار ۲: مقایسه ی دوز ۴۰۰mg/kg عصاره ی هیدروالکلی و ۶۰۰mg/kg عصاره ی آبی با آسپیرین ۳۰۰mg/kg. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ سر می باشد.

داده ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد نشان داده شده است. روش آماری آنالیز واریانس یکطرفه (one way-ANOVA) و تست کمکی توکی استفاده گردید.



نمودار ۳: مقایسه اثر دوزهای ۸۰۰mg/kg، ۶۰۰mg/kg، ۴۰۰mg/kg، ۲۰۰mg/kg و ۱۰۰mg/kg عصاره آبی گیاه کرفس با یک دیگر بر ادم ایجاد شده ناشی از تزریق زیر جلدی فرمالین در پنجه پای موش صحرایی ($P < 0.05$)، ($P < 0.05$)، ($P < 0.05$)، ($P < 0.05$)، ($P < 0.05$)، تعداد حیوانات در هر گروه ۶ سر می باشد.

داده ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد نشان داده شده است. روش آماری آنالیز واریانس یکطرفه (one way-ANOVA) و تست کمکی توکی استفاده گردید.

* تفاوت با گروه دریافت کننده عصاره ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم معنی دار است ($P < 0.05$).

** تفاوت با گروه دریافت کننده عصاره ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم معنی دار است ($P < 0.05$).

تفاوت با گروه دریافت کننده عصاره ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم معنی دار است ($P < 0.05$).

بحث

حالی که در فاز دوم اثر التهابی فرمالین ظاهر می شود. باید یادآور شد که داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی و کورتیکواستروئیدها می توانند سبب مهار فاز دوم شوند (۲۵)؛ در حالی که اپیوئیدها منجمله مورفین قادر به مهار هر دو فاز اول و دوم می باشد (۲۶).

کرفس حاوی فلاونوئید آبی بین بوده که این ماده با مکانیسم کاهش تولید نیتریک اکسید توسط سلولهای ایمنی موجب کنترل ادم می شود (۲۹ و ۲۸ و ۲۷).

بر این اساس، اثر ضد التهاب عصاره گیاه کرفس را می توان به فلاونوئید آبی ئین نسبت داد. اثر مهاری فلاونوئیدها بر التهاب حاد و مزمن به دلیل اثر بر

در پژوهش های قبلی اثر ضد التهابی عصاره هیدروالکلی اندام هوایی گیاه کرفس در تست فرمالین مشخص شده است. همانطور که در پژوهش قبلی توسط ارضی و همکاران (۴۴) مشخص شده است، دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی موثرترین اثر ضد التهاب را دارد.

در این مطالعه جهت بررسی اثر ضد التهابی عصاره گیاه کرفس از مدل ادم القا شده با فرمالین ۲/۵٪ استفاده شد. این روش به طور گسترده برای بررسی التهاب مورد استفاده قرار می گیرد (۲۲ و ۲۳ و ۲۴). تست فرمالین دارای دو فاز مجزا می باشد؛ فاز اول شامل اثر سوزشی است، در

Mehmet O و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که نیتریک اکسید در اثر التهاب افزایش می یابد و فلاونوئیدها یکی از مهار کننده های آنزیم سنتز کننده نیتریک اکسید می باشند و با مهار تولید نیتریک اکسید باعث کاهش درد و التهاب می شوند (۳۹).

در تحقیقی که در سال ۲۰۱۰ توسط *CHeraghi* و همکاران انجام گردید مشخص شد که لیمون موجود در عصاره های گیاهی از جمله گیاه کرفس، از طریق مهار آنزیم سیکلواکسیژناز تولید پروستاگلاندین ها را دچار وقفه ساخته و اثر ضد درد و ضد التهاب خود را اعمال می نمایند (۴۰).

در بررسی که در سال ۲۰۱۲ توسط *Hamza AH* و همکاران انجام شد، مشخص شد که گیاه رازیانه خواص ضد التهابی دارد؛ از آنجا که رازیانه و کرفس هر دو از خانواده چتریان اند خواص ضد التهابی کرفس قابل توجیه است (۴۱).

در مطالعه ای که توسط *Lio L* و همکاران در سال ۲۰۱۵ انجام شد، مشخص گردید که بوتیل فتالدهیدهای کرفس (سدانولید و سدانولید) دارای اثر ضد التهابی هستند (۴۲). همچنین *Peroutka R* و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که برخی فروکومارین های کرفس (مانند استول) می توانند اثر پیشگیری از التهاب داشته باشند (۴۳).

مطالعه حاضر نشان داد که اثر ضد التهاب عصاره ی هیدروالکلی اندام هوایی کرفس دارای اثر ضد التهاب وابسته به دوز بوده و بهترین دوز عصاره ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم می باشد. باید یاد آور شد که دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم دارای اثر ضد التهابی برابر با دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم آسپیرین بود. همچنین مطالعه حاضر نشان داد که اثر ضد التهاب عصاره ی آبی اندام هوایی کرفس دارای اثر ضد التهاب وابسته به دوز بوده و بهترین دوز عصاره ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم می باشد. باید یاد آور شد که دوز ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم دارای اثر ضد التهابی برابر با دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم آسپیرین

مسیرهای سیگنال کننده درد شامل فعالیت فاکتور *NF Kappa B* و فسفریلاسیون *MAP* کیناز می باشد. این مسیرها تنظیم افزایشی اینترلوکین ۶ و ۸ را میانجیگری می کنند که سبب تشکیل کموکاین های پیش التهابی شده و منجر به القا التهاب می گردند (۳۰).

علاوه بر این فلاونوئیدها تجمع لیپیدهای شناور را که برای سیگنال کردن پدیده ی درد ضروری هستند، کم می کنند. بنابراین فلاونوئیدها با مهار تجمع گیرنده ها و آبشار سیگنالی، التهاب مزمن و حاد را مهار می نمایند (۳۱).

در مطالعه ای که توسط *Serafini M* و همکاران (۲۰۱۰) انجام گردید مشخص شد که فلاونوئید آبی بین باعث مهار پروستاگلاندین *E2* و لکوترین *C4* در موش صحرائی شده و تولید ترومبوکسان *B2* را در پلاکت های انسانی مهار می کند (۳۳ و ۳۲).

Lin L و همکاران (۲۰۱۳) مشاهده کردند که لوتلین از فلاونوئید های موجود در کرفس بوده (۳۵) و *Ziyan L* و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که لوتلین موجب بهبود التهاب حاد و مزمن می گردد (۳۴).

اکثر داروهای ضد درد و ضد التهاب موجود با مهار آنزیم های سیکلواکسیژناز ۲، درد و التهاب را کاهش می دهند. *Momin RA* و همکاران (۲۰۰۲) از عصاره ی میوه ی کرفس ترکیباتی را استخراج نمودند که سیکلواکسیژناز را مهار کرده و خواص آنتی اکسیدانی داشتند. این ترکیبات شامل سدانولید، سنکیونولید، ۳- هیدروکسی متیل ۶- متوکسی ۲ و ۳- دی هیدرو ۱- ایندول ۲- ال و تربیتوفان بودند (۳۶).

مطالعه رانگ و همکاران (۱۹۹۹) و موریتز و همکاران (۱۹۹۸) نشان داد که فلاونوئیدها با مهار گیرنده ی آسپارتام باعث کاهش کلسیم داخل سلولی می شوند و به دنبال آن فعالیت آنزیم سنتز کننده ی نیتریک اکساید و فسفولیپاز *A2* وابسته به کلسیم کاهش می یابد و در نتیجه با کاهش نیتریک اکسید و پروستاگلاندین ها اثرات ضد درد خود را نشان می دهند (۳۷ و ۳۸).

حیوانات دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره‌ی کرفس، هیچ گونه عارضه جانبی مشاهده نشد.

بود. بر این اساس شاید یکی از مکانیسم‌های اثر عصاره کرفس مهار سنتز پروستاگلاندین‌ها باشد که اثبات آن نیاز به مطالعات بعدی دارد. لازم به یادآوری است که در

منابع

- 1-Abul Abbas K. Andrew H. Cellular andMolecular Immunology.Lichtman and Jordan. 1997;3 th ed.W . B. Saunders Company.P.13-17.
- 2-Bahadori A. GHasemlue S. Immunology and Serology. Tehran: KHosravi publication. 2011; page 137-8
- 3-Azadbakht M. Classification of Herbal plants. Tehran: Teymor Zade Publication.1999; P322. [Persian]
- 4-Amin GH. Iranian Medicinal Plants. Academic Pablication center; 1991; Page128.[Persian]
- 5-Zargari A. Iranian Medicinal Plants. 6 ed: Tehran: Tehran University;1997;3. Page 243. [Persian]
- 6-Momin R, Nair M. Antioxidant, cyclooxygenase and topoisomerase inhibitory compounds from Apium graveolens Linn. Seeds. Phytomedicine. 2002;9(4):312-8.
- 7-Woods J, Jewell C, O'Brien N. Sedanolide, a natural phthalide from celery seed oil: effect on hydrogen peroxideand tert-butyl hydroperoxide-induced toxicity in HepG2 and CaCo-2 human cell lines. In Vitro & Molecular Toxicology: A Journal of Basic and applied Research. 2001; 14(3):233-40.
- 8-Sultana S, Ahmed S, Jahangir T, Sharma S. Inhibitory effect of celery seeds extract on: modulation of cell proliferation, metabolism chemically induced hepatocarcinogenesis and altered hepatic foci development.Cancer letters. 2005; 221(1): 11-20.
- 9-Tsi, D., Das, N.P. and Tan, B.K., 1995. Effects of aqueous celery (Apium graveolens) extract on lipid parameters of rats fed a high fat diet. Planta Medica, 61: 18-21.
- 10-Iyer D, Patil UK. Effect of chloroform and aqueous basic fraction of ethanolic extract from Apium graveolens L. in experimentally-induced hyperlipidemia in rats. J Compelement Integr Med. 2011Sep 27;(8)1.
- 11-Momin RA, Nair MG. Antioxidant, cyclooxygenase and topoisomerase inhibitory compounds from Apium graveolens Linn. seeds. Phytomedicine 2002; 9: 312 – 8.
- 12-Momin R, Nair M. Antioxidant, cyclooxygenase and topoisomerase inhibitory compunds from Apium graveolens Linn. Phytomedicine. 2002;9(4):312-8.
- 13-Zidorn C, Jöhner K, Ganzera M, Schubert B, Sigmund EM, Mader J, etal. Polyacetylenes from the Apiaceae vegetables carrot, celery fennelparsley, and parsnip and their cytotoxic, activities. Journal of agricultural and food chemistry. 2005;53(7):2518-23.
- 14-Duke J A .CRC handbook of medicinal herbs . Boca Raton : CRC press inc 1989 page 45 – 6.
- 15-Wichtl M . Herbal drugs and phytopharmaceuticals . translated by : Bisset N G .BOCA Raton : CRC press 1994 page81-2
- 16-Negella P,Ahmad A , Kim SJ ,Chung IM. Chemical composition, antioxidant activity and larvicidal effects of essential oil from leaves of Apium graveolens. Immunopharmacol Immunotoxicol. 2012 Apr;34(2):205-9. Epub 2011 Jul 8.
- 17-Ahmadi F . kadirvar M . Shahidi M . Antioxidant activity of kelussia odoratissima Mozaf in model and food system . foodbook chemistry . 2007
- 18-Nasri S, Ramezani M, Yasa N. The effect of antinociceptive and anti- inflammatory of hydroalcoholic extract of Apium graveolens fruit. Medical sciences of Shahrkord Jour.2008; 15(5): 25-32
- 19-Raji Y,Udoh US ,Oluwadara OO , Akinsomisoye OS , Awobaja O , AeshogaK, Anti –inflammatory and analgesic properties of the rhizome extract of zingiber officinale .Afr J Biomed 2002, 5:121-4.
- 20-Taesotikul T, Pantong A , Kanjanapohi D , Verpoorte R, Scheffer JJ , Anti - inflammatory and ,antipyretic and antinociceptive activities of Tabernaemontana pandacaqui poir . J Ethnopharmacol 2003,84:31-5.
- 21-Arzi A, Nazari Z, Ahmadi Saliانه SV. Study of the effect of hydro alcoholic extract of Fumaria Parviflora on carrageenan induced inflammation in male rat paw Jentashapir 2013;4(2):121-130
- 22-Raji Y,Udoh US ,Oluwadara OO , Akinsomisoye OS , Awobaja O , AeshogaK, Anti –inflammatory and analgesic properties of the rhizome extract of zingiber officinale .Afr J Biomed 2002, 5:121-4.
- 23-Taesotikul T, Pantong A , Kanjanapohi D , Verpoorte R, Scheffer JJ , Anti - inflammatory and ,antipyretic and antinociceptive activities of Tabernaemontana pandacaqui poir . J Ethnopharmacol 2003,84:31-5.
- 24-Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, Inoki R. Modified formalin test: Characteristic biphasic pain response. Pain.1989; 38:347-352.
- 25-Hosseinzadeh H, Ramezani M, Salmani G. Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of Zataria multiflora Boiss extracts in mice and rats. Journal of ethnopharmacology. 2000;73(3):379-85.

- 26-Gomes PB, Oliveira MMS, Nogueira CRA, Noronha EC, Carneiro LMV, Bezerra JNS, et al. Study of antinociceptive effect of isolated fractions from *Petiveria alliacea* L.(tipi) in mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2005; 28(1): 42-6.
- 27-Duke J A .CRC handbook of medicinal herbs . Boca Raton : CRC press inc 1989 page 45 – 6.
- 28-Wichtl M . Herbal drugs and phytopharmaceuticals . translated by : Bisset N G .BOCA Raton : CRC press 1994 page81-2
- 29-Mencherini T, Cau A, Bianco G. An extract of *Apium graveolens* var. dulce leaves: structure of the major constituent, apiin and its anti-inflammatory properties. *J Pharm Pharmacol*. 2007 Jun; 59(6): 891-7
- 30-Tsai P, Chen Y, Hsueh C, Hsieh H. *Streptococcus pyogenes* induces epithelial inflammatory responses through NF-kappaB/MAPK signaling pathways. *Microbes Infect*. 2006 May; 8(6): 1440-9.
- 31-Kumazawa Y, Kawauchi K, Takimoto H. Immunomodulating effects of flavonoids on acute and chronic inflammatory responses caused by tumor necrosis factor alpha. *Curr Pharm Des*. 2006; 12(32): 4271-9.
- 32-Serafini M, Peluso I, Raguzzini A. Flavonoids as anti-inflammatory agents. *Proc Nutr Soc*. 2010 Aug;69(3):273-8.
- 33-Skaltsa H, Bermejo P, Lazari D, Silven AM. Inhibition of prostaglandin E2 and leukotrine C4 in mouse peritoneal macrophages and thromboxane B2 production in human platelets by flavonoids from *stachys chrysantha candida* . *Biol pharm bull MJ* 2000,23(1):47-53.
- 34-Ziyan L, Yongmei Z, Nan Z, Ning T, Baolin L. Evaluation of the anti- inflammatory activity of luteolin in experimental animal models. *Planta Med*. 2013 Mar; 73(3): 221-6.
- 35-Lin L, Lu S, Harnly J. Detection and quantification of glycosylated flavonoid malonates in celery, Chinese celery, and celery seed by LC-DAD-ESI/MS. *J Agric Food Chem*. 2013 Feb; 55(4): 1321-6.
- 36-Momin R, Nair M. Antioxidant, cyclooxygenase and topoisomerase inhibitory compounds from *Apium graveolens* Linn. Seeds. *Phytomedicine*. 2002 May; 9(4): 312-8.
- 37-Mrowietz U, Christophers E, Altmeyer P. Treatment of psoriasis with fumaric acid esters results of a prospective. *British Journal of Dermatology*.1998;138:456-460.
- 38-Rang HO, Date MM,Ritter JM.Text book of pharmacology.NewYork.Chuchill & Livingstone 1999;43.p.33-609.
- 39-Mehmet O,Yagiz U,Mehmet G.Comparison of the effects of spesific and nonspecific inhibition of nitric oxide synthas on morphin analgesia, tolerance and dependance in mice.*Life Sci*.2013; 72(17):51-1943
- 40-CHeraghi J. Valadi A. Effects of limonin on inflammation and pain in herbal plants. *Herbal Plants Research Journal*:2009; 26(3): 415-22.
- 41-Hamza AH, Ahmed HH New insights on the anti-inflammatory effect of some Egyptian plants against renal dysfunction induced by cyclosporine *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2012 Apr;16(4):455-61
- 42-Liu, L., Ning, Z.q., Zhang, K., Deng, T., lu, X.P. and Cheng, Y.Y., Phthalid lactones from *ligusticum chuanxiong* inhibit lipopolysaccharideinduced TNF-alpha production and TNF-alpha mediated NF-kappaB activation. *Planta Medica*, 2015, 71(9): 808-813.
- 43-Peroutka, R., Schulzova, V., Botek, P. and Hajslova, J, Analysis of (Apiaceae) and citrus fruits (Rutaceae). *Journal of furanocoumarins in vegetables the science of Food and Agriculture*, 2007, 87: 2152-2163
- 44-Arzi A., Sistani Karampour N., Siahpush A., Garavand A.Study of the Effect of *Apium graveolens* Hydroalcoholic Extract on Formalin-induced Inflammation in Male Rat Hind Paw.*Scientific Medical Journal*.2014 , 4: 121-130
- 45-Laine L, Curtis SP, Cryer B, et al. Risk factors for NSAID-associated upper GI clinical events in a long-term prospective study of 34 701 arthritis patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32:1240.

The Comparison of Preventive Effect of *Apium Graveolens* Hydroalcoholic and Aqueous Extract on Formalin-Induced Inflammation in Male Rat Hind Paw

Ardeshir Arzi¹, Neda Sistani Karam pour^{2*}, Homayon Garavand³

1-Professor of Pharmacology and Toxicology.

2-Assistant Professor of Pharmacology.

3-Pharmacy Student.

1-Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy and Physiology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

2-Department of Pharmacology, School of Pharmacy, University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

3-School of Pharmacy, University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

*Corresponding author:

Neda Sistani Karam pour;
Department of Pharmacology,
School of Pharmacy, University of
Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
Tel: +98963134451
Email: N.sistani1386@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: Gastrointestinal complications caused by using nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) motivated researchers to pay more attention to herbal medicines with anti-inflammatory effect. The aim of this study was to compare the anti-inflammatory effect of hydroalcoholic and aqueous extract of *Apium graveolens* with aspirin in treatment of formalin-induced inflammation in rat hind paw.

Subjects and Methods: Male Wistar rats (weighting 150-180 g) were used in this study. To prepare hydroalcoholic extract, ethanol (70%) and maceration method were used and to prepare aqueous extract distilled water and maceration method were used. Animals were divided into 11 groups (6 in each). Negative control group received 5ml/kg normal saline and positive control group received 300 mg/kg aspirin. The test groups received various increasing doses of the hydroalcoholic extract (100, 200, 400, 600 mg/kg) or 100, 200, 400, 600, 800 mg/kg of aqueous extract of *Apium graveolens* via intraperitoneal route. Thirty minutes later all groups received 100 µl formalin 2.5% subcutaneously at the hind paw. Then, changes in the volume of rat paw were measured hourly for 5 hrs using plethysmometer.

Results: All hydroalcoholic extract treated groups showed significant difference ($p < 0/05$) when compared with negative control group. The 100 and 200 mg/kg of extract showed anti-inflammatory effect less than aspirin at all allocated times. But there was no significant differences between the groups that received 400 and 600 mg/kg extract with aspirin group.. Except for the 100 mg/kg group, all aqueous extract treated groups showed significant differences ($p < 0/05$) when compared with negative control group. The 200 and 400 mg/kg of extract showed anti-inflammatory effect less than aspirin at all allocated times. But there was no significant differences between the groups that received 600 and 800 mg/kg aqueous extract with aspirin group.

Conclusion: The hydroalcoholic extract (400 mg/kg) and aqueous extract (600 mg/kg) of *Apium graveolens* were as effective as 300 mg/kg aspirin in alleviating edema in rat hind paw.

Keywords: *Apium graveolens*, Aspirin, Formalin, inflammation, rat.

►Please cite this paper as:

Arzi A, Sistani Karam pour N, Garavand H. The Comparison of Preventive Effect of *Apium Graveolens* Hydroalcoholic and Aqueous Extract on Formalin-Induced Inflammation in Male Rat'S Hind Paw. *Jundishapur Sci Med J* 2016;15(5):497-506.

Received: June 21, 2016

Revised: Oct 25, 2016

Accepted: Nov 1, 2016