تحقیقی

اثر عصاره هگزانی و هیدروالکلی گل‌های گیاه *شاهدانه* بر ادم التهابی پای موش صحرایی

بهرام فرهادی مقدم[۱]، دکتر مسعود فریدونی*[۲]، دکتر علی اسدالهی[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد زیست‌شناسی گرایش فیزیولوژی جانوری، مرکز تحقیقات علوم اعصاب و رفتار رایان، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. ۲- دانشیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب و رفتار رایان، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. ۳- استادیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب و رفتار رایان، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

چکیده

زمینه و هدف : *برخی از عصاره‌های گیاهان دارویی با دارا بودن انواع ترکیبات فعال، از طرق مختلف قادرند سطوح سیتوکاین‌ها و سایر میانجی‌های التهابی را کاهش دهند این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره هگزانی و هیدروالکلی گل‌های گیاه شاهدانه بر ادم التهابی پای موش صحرایی انجام شد.*

روش بررسی : *در این مطالعه تجربی ۵۶ سر موش صحرایی نر در گروه‌های کنترل، شم، دریافت‌کننده دوز ۳۰۰mg/kg سالیسیلات سدیم، دریافت‌کننده دوزهای ۱ mg/kg ، ۱۰ و ۵۰ عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده، دوز ۵۰mg/kg عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت ندیده و عصاره هگزانی گل‌های حرارت دیده دسته‌بندی شدند. پس از گذشت ۳۰ دقیقه از تجویز صفاقی در هر گروه، حجم ادم التهابی ناشی از تزریق ۰/۰۵ سی‌سی فرمالین ۲/۵درصد به کف پای حیوانات به روش پلتیسموتری سنجیده شد.*

یافته‌ها : *تجویز داخل صفاقی ۵۰ mg/kg عصاره‌های هیدروالکلی و هگزانی گل‌های حرارت دیده موجب کاهش حجم ادم التهابی پا ناشی از فرمالین شد ($P<0/05$). از طرفی تجویز داخل صفاقی ۵۰ mg/kg عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت ندیده حجم ادم التهابی پا را نسبت به عصاره‌های حرارت دیده کاهش داد ($P<0/05$).*

نتیجه‌گیری : *عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده گیاه شاهدانه حجم ادم پای ناشی از التهاب را به‌صورت وابسته به دوز کاهش داد. عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت ندیده به خاطر وجود کانابینوئیدهای کربوکسیله در مقایسه با گل‌های حرارت دیده سبب کاهش بیشتر حجم ادم التهابی پای موش صحرایی می‌گردد.*

کلید واژه‌ها : *گیاه شاهدانه ، ادم ، اندام تحتانی ، موش صحرایی*

* نویسنده مسؤول : دکتر مسعود فریدونی ، پست الکترونیکی **fereidoni@um.ac.ir**

نشانی: مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، تلفن ۳۸۷۶۲۲۲۷-۰۵۱، نمابر ۳۸۷۶۲۲۲۷

وصول مقاله : ۹۳/۶/۱۹ ، اصلاح نهایی : ۹۳/۱۲/۱۳ ، پذیرش مقاله : ۹۴/۱/۳۱

مقدمه

برخی از عصاره‌های گیاهان دارویی با دارا بودن انواع ترکیبات فعال، از طرق مختلف قادرند سطوح سیتوکاین‌ها و سایر میانجی‌های التهابی را کاهش دهند (۱). از طرفی شناخت سیستم‌های درون‌زاد ضدالتهابی، میانجی‌ها و گیرنده‌های آنها نه‌تنها می‌تواند توضیح‌دهنده علت بروز برخی از آسیب‌ها باشد؛ بلکه می‌تواند گام مهمی در کشف داروهای جدیدی که در هماهنگی با مسیرهای درون‌زاد، اثرات ضدالتهابی دارند نیز باشد (۲).

سیستم اندوکانابینوئیدی، سیستم سیگنالینگ تعدیل‌گر و درون‌زاد مشتق شده از لیپید است (۳) که دارای سه جزء است. الف) کانابینوئیدهای درون‌زاد که دو ترکیب مهم آنها 2-Arachidonoylglycerol و N-arachidonylethanolamine است که بر گیرنده‌های کانابینوئیدی و غیرکانابینوئیدی غشاء اثر دارند (۴). ب) گیرنده‌های کانابینوئیدی (CB1 و CB2) که به G- پروتئین‌ها متصل هستند و گیرنده CB1 به‌طور غالب در سیستم عصبی مرکزی و CB2 به عنوان گیرنده محیطی کانابینوئیدی در بافت‌هایی مانند بافت لنفوئیدی، سلول‌های خونساز، سیستم ایمنی و در بعضی نورون‌ها حضور دارند و در تعدیل آزادسازی سیتوکاین‌ها و پاسخ ایمنی به التهاب نقش دارد (۵). ج) شامل پروتئین‌های مسؤول تولید، انتقال و تجزیه کانابینوئیدها هستند (۶).

قریب به ۵۰۰۰ سال است که از گیاه *شاهدانه* (*Cannabis sativa*) به عنوان گیاهی دارویی برای درمان انواع بیماری‌ها از جمله روانپریشی، بی‌خوابی، حالت تهوع، گلوکوما و موارد دیگر استفاده می‌شود. این گیاه دارای ۶۶ ترکیب کانابینوئید

گیاهی است که گل‌های پایه ماده آن دارای بیشترین میزان این کانابینوئیدهاست (۷). این ترکیبات غیرقطبی در گیاه به شکل کربوکسیلیک اسید تولید می‌گردند (۸). Tetrahydrocannabinolic acid (THCA) و Cannabidiolic acid (CBDA) اصلی‌ترین کانابینوئیدهای گیاهی هستند (۷).

با توجه به اثرات ضدالتهابی ناشی از فعالیت سیستم اندوکانابینوئیدی، کانابینوئیدهای گیاهی موجود در گل‌های پایه ماده گیاه *شاهدانه* می‌توانند با فعال نمودن این سیستم اثرات ضدالتهابی از خود بروز دهند. این مطالعه به منظور یافتن بهترین حلال برای استخراج مقدار بیشتری کانابینوئید گیاهی، عصاره‌های هیدروالکلی و هگزانی از گل‌های پایه ماده گیاه *شاهدانه* تهیه شده و اثر آنها بر میزان التهاب و همچنین اثر فیزیولوژیک این کانابینوئیدهای گیاهی بر التهاب، به دنبال تغییر در ساختار آنها در اثر حرارت دیدن انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی ۵۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده گردید. موش‌ها در حیوانخانه گروه زیست‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد در شرایط استاندارد با درجه حرارت ۲۱ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۰ درصد، سیکل نوری ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و امکان دسترسی به آب و غذای کافی، نگهداری شدند.

حیوانات در هشت گروه هفت‌تایی شامل گروه کنترل (بدون تیمار)، گروه شم دریافت کننده حلال شامل ترکیب اتانول، توئین ۸۰ و سالین به ترتیب با نسبت‌های ۸:۱:۱، گروه دریافت کننده سالیسیلات سدیم (۳۰۰mg/kg) به عنوان گروه کنترل مثبت، گروه‌های دریافت کننده عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده با دوزهای ۱ mg/kg ، ۱۰ و ۵۰، گروه دریافت کننده دوز ۵۰ mg/kg عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت ندیده و گروه دریافت کننده دوز ۵۰ mg/kg عصاره هگزانی گل‌های حرارت دیده تقسیم شدند.

تمامی تجویزها به‌صورت داخل صفاقی بود و همه مراحل آزمایش‌ها تحت مقررات بین‌المللی رعایت حقوق حیوانات آزمایشگاهی انجام شد (۹). با توجه به تحقیقات صورت گرفته که اثر دوز ۵۰mg/kg بررسی شده است (۱۰)؛ در این مطالعه نیز دوز ۵۰mg/kg ملاک قرار داده شد و برای یافتن پاسخ وابسته به دوز از دوزهای ۱mg/kg و ۱۰ نیز استفاده گردید. ابتدا دوزهای ۱ mg/kg ، ۱۰ و ۵۰ عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده تجویز شد و پس از مشخص شدن دوز ۵۰ mg/kg به عنوان مؤثرترین دوز، به منظور مقایسه اثر عصاره‌ها بر تغییرات حجم ادم التهابی در گروه‌های دیگر فقط دوز ۵۰ mg/kg از عصاره‌ها تجویز گردید.

به منظور عصاره‌گیری، از گل‌های پایه ماده گیاه *شاهدانه* که توسط آزمایشگاه بیوسیستماتیک گیاهی تهیه و با کد هرباریومی ۴۴۶۹۰ توسط پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی تأیید و نگهداری شده بود؛ استفاده گردید. ابتدا گل‌ها عاری از برگ و ساقه شدند و به منظور خشک کردن در مکانی تاریک و خشک به مدت دو هفته نگهداری گردید. سپس برای هر عصاره‌گیری مقدار ۵۰ گرم از ماده خشک مورد استفاده قرار گرفت. برای تهیه عصاره هگزانی گل‌های حرارت دیده، ماده خشک به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد در آون حرارت داده شد و سپس با هگزان و روش ماسراسیون (خیساندن) (۱۱) عصاره‌گیری و سپس توسط کاغذ صافی، صاف گردید. برای تهیه عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده، ماده خشک پس از حرارت دیدن، با استفاده از اتانول ۷۰درصد (۱۲) به روش خیساندن عصاره‌گیری شد و به منظور تهیه عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت ندیده، به‌جز حرارت دیدن، سایر موارد ذکر شده انجام شد. پس از عصاره‌گیری حلال‌ها به‌طور کامل تبخیر شدند.

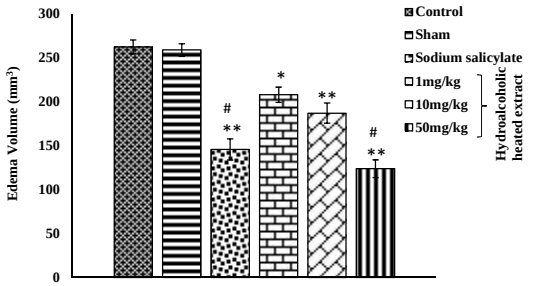
برای سنجش میزان التهاب، حجم ادم ناشی از التهاب اندازه‌گیری شد. در ابتدا حجم اولیه پای حیوان به روش پلتیسمومتری دیجیتالی (Plethysmometery) اندازه‌گیری شد. در این روش پای حیوان تا ناحیه مچ که توسط ماژیک علامت‌گذاری شده بود؛ به درون ستون جیوه که روی ترازوی دیجیتالی قرار داشت؛ فرو برده شد و عدد مشاهده شد ثبت گردید. پس از گذشت مدت زمان ۳۰ دقیقه از تجویز داخل صفاقی، برای القای ادم التهابی، میزان ۰/۰۵ سی‌سی فرمالین ۲/۵درصد به‌صورت زیرجلدی به کف پای حیوان تزریق گردید. از آنجایی که پس از گذشت ۶۰ دقیقه از تزریق کف پایی فرمالین، میزان التهاب ایجاد شده به حداکثر رسید؛ حجم ثانویه پا پس از گذشت این زمان مجدداً به روش پلتیسمومتری اندازه‌گیری شد. سپس با استفاده از فرمول محاسباتی زیر حجم ادم القاء شده توسط فرمالین محاسبه گردید (۱۳). بدین ترتیب که میزان حجم اولیه پا از حجم ثانویه پا کسر گردید و نتیجه بر جرم حجمی جیوه (عدد ۱۳/۶) تقسیم شد.

نتایج به صورت mean±SEM ارایه شدند. معنی‌داری تفاوت بین میانگین‌ها با آزمون ANOVA یک‌طرفه و با استفاده از نرم‌افزار آماری GraphPad Prism 6 و به دنبال آن مقایسه میانگین‌ها با آزمون T-Student-Neumann-keuls و با حداقل سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ برآورد شدند.

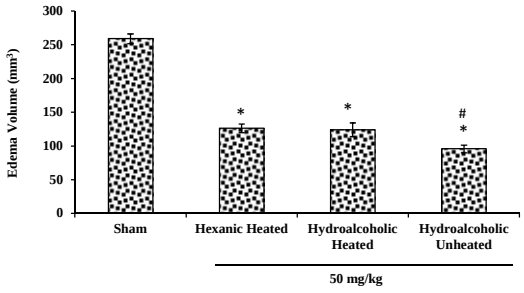
یافته‌ها

مقایسه نتایج حاصل از اندازه‌گیری تغییرات حجم ادم التهابی پا ناشی از تزریق کف پایی فرمالین، بین گروه‌های کنترل و شم حاکی

از عدم اثرگذاری حلال بر میزان حجم ادم التهابی پا بود و اختلاف آماری معنی‌داری بین این دو گروه مشاهده نگردید. از طرفی تجویز داخل صفاقی دوز ۳۰۰mg/kg سالیسیلات سدیم به عنوان گروه کنترل مثبت منجر به کاهش آماری معنی‌داری در حجم ادم التهابی پا در مقایسه با گروه کنترل و شم گردید (P<۰/۰۰۱). مقایسه نتایج حاصل از تجویز داخل صفاقی دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده با گروه کنترل نشان داد دوزهای ۱ mg/kg ، ۱۰ و ۵۰ سبب کاهش آماری معنی‌داری در حجم ادم التهابی پا شده است (P<۰/۰۱). در این میان دوز ۵۰ mg/kg بیشترین اثر را در کاهش حجم ادم التهابی پا مانند گروه سالیسیلات سدیم در مقایسه با گروه شم و سایر دوزها نشان داد (P<۰/۰۰۱) (نمودار یک).



نمودار ۱ : مقایسه تغییرات حجم ادم التهابی پا ناشی از تزریق کف پایی فرمالین بین گروه‌های کنترل، شم، سالیسیلات سدیم (۳۰۰mg/kg) و دریافت کننده دوزهای ۱ mg/kg، ۱۰ و ۵۰ عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده.
نتایج به‌صورت mean±SEM ارایه شده است.
**** P<۰/۰۱، ** P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه شم، # P<۰/۰۰۱ در مقایسه با دوزهای ۱ mg/kg و ۱۰، (n=۷)***



نمودار ۲ : مقایسه تغییرات حجم ادم التهابی پا ناشی از تزریق کف پایی فرمالین بین گروه‌های شم و دریافت کننده دوز ۵۰ mg/kg عصاره‌های هگزانی گل‌های حرارت دیده، هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده و هیدروالکلی گل‌های حرارت ندیده.
نتایج به‌صورت mean±SEM ارایه شده است.
**** P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه شم، # P<۰/۰۵ در مقایسه با عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده، (n=۷)***

نتایج حاصل از سنجش حجم ادم التهابی پس از تجویز داخل صفاقی دوز ۵۰ mg/kg از عصاره هگزانی حرارت دیده و عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت ندیده نشان داد عصاره هگزانی مانند عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده منجر به کاهش چشمگیر حجم ادم التهابی پا شده است (P<۰/۰۰۱). از طرفی عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت ندیده نیز توانست حجم ادم التهابی پا را در مقایسه با عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده به میزان معنی‌داری کاهش دهد (P<۰/۰۵) (نمودار۲).

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه تجویز داخل صفاقی عصاره‌های هیدروالکلی و هگزانی گل‌های حرارت دیده مانند سالیسیلات سدیم موجب کاهش حجم ادم التهابی پا ناشی از تزریق کف پایی فرمالین شد. از طرفی تجویز داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت ندیده حجم ادم التهابی را در مقایسه با عصاره‌های حرارت دیده نیز کاهش داد. مطالعات پیشین حاکی از آن است که کانابینوئیدهای گیاهی در اثر حرارت دیدن دکربوکسیله شده و تغییر ساختار می‌دهند. به عنوان مثال می‌توان به THCA و CBDA اشاره کرد که در اثر حرارت به ترتیب به Tetrahydrocannabinol (THC) و Cannabidiol (CBD) تبدیل می‌گردند (۸). عصاره هیدروالکلی و هگزانی گل‌های حرارت دیده حاوی کانابینوئیدهای کربوکسیله هستند و احتمالاً از طریق همین کانابینوئیدها و مکانیسم‌های وابسته به آنهاست که توانسته‌اند اثرات ضدالتهابی از خود بروز دهند.

تزریق کف پایی فرمالین با تحریک گیرنده‌های فیبرهای عصبی C و Aδ در ریشه پشتی نخاع موجب آزادسازی میانجی‌های التهابی ماده P و Calcitonin gene related peptide (CGRP) همراه با گلوتامات می‌گردد. این ترکیبات پس از آزاد شدن، نورون‌های پس‌سیناپسی خود را در شاخ پشتی نخاع تحریک می‌کنند (۱۴). کانابینوئیدهای دکربوکسیله از قبیل THC و CBD با فعال نمودن گیرنده‌های CB1 حاضر در پایانه عصبی C و Aδ ، تولید cAMP را در سلول پیش‌سیناپسی مهار می‌نمایند که با فعال‌سازی کانال‌های پتاسیمی و مهار ورود کلسیم به داخل سلول موجب هایپرپلاریزه گشتن سلول و مهار آزادسازی ماده P ، CGRP و گلوتامات می‌گردند (۱۶-۱۴). از طرف دیگر برادی‌کینین‌ها به‌عنوان میانجی التهابی با تولید cAMP موجب افزایش بیان آنزیم‌های COX2 و تولید پروستاگلاندین‌ها می‌گردند که این ترکیبات نیز از طریق مسیر cAMP-PKA حساسیت و فعالیت گیرنده‌های Transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) را افزایش می‌دهند. فعال شدن CB1 در اثر اتصال به کانابینوئیدها با مهار آنزیم آدنلیل سیکلاز و تولید cAMP همراه است که این مهار می‌تواند هم تولید COX2 و هم مسیر اثر برادی کینین‌ها را بر گیرنده‌های TRPV1 مهار نماید و از این طریق التهاب و دردهای التهابی را کاهش دهد (۱۵). گیرنده CB2 نیز که در سطح سلول‌های

ایمنی B، T، ماستوسیت‌ها و ماکروفاژها بیان می‌گردند؛ با اتصال کانابینوئیدهای دکربوکسیله فعال شده و با مهار تولید برخی از اینترلوکین‌ها پاسخ‌های التهابی را مهار می‌نماید (۱۷). بدین ترتیب احتمالاً کانابینوئیدهای دکربوکسیله از مسیرهای یاد شده می‌توانند التهاب را سرکوب نمایند.

نتیجه جالب حاصل از این تحقیق اثر کاهشی بسیار چشمگیری است که عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت ندیده توانست در قیاس با عصاره گل‌های حرارت دیده بر حجم ادم التهابی پا اعمال نماید. عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت ندیده حاوی کانابینوئیدهای کربوکسیله‌ای است که معمولاً آنها را غیرفعال می‌دانند.

نتایج تحقیقاتی که به‌صورت In vitro به بررسی اثر کانابینوئیدهای کربوکسیله و دکربوکسیله بر آنزیم‌های COX پرداخته‌اند؛ نشان می‌دهد کانابینوئیدهای کربوکسیله به‌ویژه ترکیب CBDA در دوزهای بالا اثر مهاری قدرتمندی بر آنزیم‌های COX1 و COX2 اعمال می‌نمایند (۸و۱۸). داروهایی نظیر آسپرین که جزء مشتقات سالیسیلات داروهای غیراستروئیدی ضدالتهابی هستند؛ به‌واسطه داشتن گروه کربوکسیلیک اسیدی چون سالیسیلیک اسید و با ایجاد پل نمکی هر دو آنزیم COX را مهار می‌نمایند. این احتمال وجود دارد که حضور گروه سالیسیلیک اسید در ساختمان THCA و CBDA موجب ایجاد شباهت ساختاری این ترکیبات با NSAIDs بود که منجر به اعمال اثر مهاری بر آنزیم‌های سیکلواکسیژناز شده است (۸). در این میان CBDA در قیاس با THCA و سایر ترکیبات کانابینوئیدی به صورت قدرتمندی آنزیم‌های COX1 و COX2 را مهار می‌کند (۱۸). احتمالاً علت این اثر مهاری مربوط به کل ساختار CBDA و حضور عامل Resorcinol در آن است (۸).

با توجه به نتایج حاصل از مطالعات می‌توان بیان نمود احتمالاً عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت ندیده به علت داشتن کانابینوئیدهای کربوکسیله توانسته است با مهار آنزیم‌های COX1 و COX2 در مقایسه با دو عصاره دیگر اثرات ضد التهابی بیشتری از خود بروز دهد و موجب کاهش بیشتر حجم ادم التهابی پا ناشی از تزریق فرمالین گردد.

با توجه به یافته‌های حاصل از این مطالعه پیشنهاد بعدی در ادامه راه این است که مواد مؤثره عصاره گیاه از طریق روش‌های کروماتوگرافی جداسازی شده و بر روی هر یک از آنها تحقیق مستقل و با دید مکانیسمی صورت گیرد و در صورت نیاز عوارض جانبی و همچنین مطالعات فارماکوکینتیکی روی فرکشن‌های مختلف عصاره گیاه در هر دو روش عصاره‌گیری به ویژه با تاکید بر مقایسه میزان کانابینوئیدهای کربوکسیله بین دو نوع عصاره حرارت دیده و حرارت ندیده انجام پذیرد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده گیاه شاهدانه حجم ادم پای ناشی از التهاب را به‌صورت وابسته به دوز کاهش می‌دهد. عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت ندیده به خاطر وجود کانابینوئیدهای کربوکسیله در مقایسه با گل‌های حرارت دیده سبب کاهش بیشتر حجم ادم التهابی پای موش صحرایی می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه آقای بهرام فرهادی مقدم برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست‌شناسی گرایش فیزیولوژی جانوری از گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد بود و با حمایت دانشگاه فردوسی مشهد انجام گردید. بدین‌وسیله از دانشگاه فردوسی مشهد و نیز از آقای دکتر علی شیری عضو محترم هیأت علمی گروه شیمی دانشگاه فردوسی مشهد تقدیر و تشکر به‌عمل می‌آید.

References

1. de Melo MS, Quintans Jde S, Araújo AA, Duarte MC, Bonjardim LR, Nogueira PC, et al. A systematic review for anti-inflammatory property of clusiaceae family: a preclinical approach. Evid Based Complement Alternat Med. 2014;2014:960258. doi: 10.1155/2014/960258

2. Cash JL, Norling LV, Perretti M. Resolution of inflammation: targeting GPCRs that interact with lipids and peptides. Drug Discov Today. 2014 Aug; 19(8):1186-92. doi: 10.1016/j.drudis.2014.06.023

3. Cavuoto P, Wittert GA. The role of the endocannabinoid system in the regulation of energy expenditure. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2009 Feb; 23(1):79-86. doi: 10.1016/j.beem.2008.10.005

4. Parolaro D, Realini N, Vigano D, Guidali C, Rubino T. The endocannabinoid system and psychiatric disorders. Exp Neurol. 2010 Jul; 224(1):3-14. doi: 10.1016/j.expneurol.2010.03.018

5. Borgelt LM, Franson KL, Nussbaum AM, Wang GS. The pharmacologic and clinical effects of medical cannabis. Pharmacotherapy. 2013 Feb; 33(2):195-209. doi: 10.1002/phar.1187

6. Svízenská I, Dubový P, Sulcová A. Cannabinoid receptors 1 and 2 (CB1 and CB2), their distribution, ligands and functional involvement in nervous system structures--a short review. Pharmacol Biochem Behav. 2008 Oct; 90(4):501-11. doi: 10.1016/j.pbb.2008.05.010

7. Burns TL, Ineck JR. Cannabinoid analgesia as a potential new therapeutic option in the treatment of chronic pain. Ann Pharmacother. 2006 Feb; 40(2):251-60.

8. Takeda S, Misawa K, Yamamoto I, Watanabe K. Cannabidiolic acid as a selective cyclooxygenase-2 inhibitory component in cannabis. Drug Metab Dispos. 2008 Sep; 36(9):1917-21. doi: 10.1124/dmd.108.020909

9. Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. Pain. 1983 Jun;16(2):

109-10.

10. Tehranipour M, Javadmoosavi Z. [The neuroprotective effect of alco holic extract of cannabis sativa on neuronal density of spinal cord alpha motoneurons after sciatic nerve injury in rats]. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci. 2011; 19(3):339-49. [Article in Persian]

11. Samsam Shariat SH. [Extraction of effective components of herbal medicine, determination and evaluation methods]. Esfahan: Mani Press. 1992; pp: 12-13. [Persian]

12. Makkizadeh M, Tafti RF, Rabii M, Rastifar M. [Evaluation Allelopathic effect of Hemp (Cannabis sativa L.) on germination and growth of three kinds of weeds]. Quarterly Crop Physiology. 2011; 3(11): 77-88. [Article in Persian]

13. Fereidoni M, Ahmadiani A, Semnanian S, Javan M. An accurate and simple method for measurement of paw edema. J Pharmacol Toxicol Methods. 2000 Jan-Feb;43(1):11-4.

14. Lever IJ, Malcangio M. CB1 receptor antagonist SR141716A increases capsaicin-evoked release of Substance P from the adult mouse spinal cord. Br J Pharmacol. 2002 Jan; 135(1): 21-24. doi: 10.1038/sj.bjp.0704506

15. Oshita K, Inoue A, Tang HB, Nakata Y, Kawamoto M, Yuge O. CB1 cannabinoid receptor stimulation modulates transient receptor potential vanilloid receptor 1 activities in calcium influx and substance P release in cultured rat dorsal root ganglion cells. J Pharmacol Sci. 2005; 97(3): 377-85. doi: 10.1254/jphs.FP0040872

16. Costa B, Giagnoni G, Franke C, Trovato AE, Colleoni M. Vanilloid TRPV1 receptor mediates the antihyperalgesic effect of the nonpsychoactive cannabinoid, cannabidiol, in a rat model of acute inflammation. Br J Pharmacol. 2004 Sep; 143(2): 247-50. doi: 10.1038/sj.bjp.0705920

17. Izzo AA, Sharkey KA. Cannabinoids and the gut: new developments and emerging concepts. Pharmacol Ther. 2010 Apr; 126(1):21-38. doi: 10.1016/j.pharmthera.2009.12.005

18. Ruhaak LR, Felth J, Karlsson PC, Rafter JJ, Verpoorte R, Bohlin L. Evaluation of the cyclooxygenase inhibiting effects of six major cannabinoids isolated from Cannabis sativa. Biol Pharm Bull. 2011;34(5):774-8.

Original Paper

Effect of hexanic and hydroalcoholic extract of *Cannabis sativa* flowers on inflammatory paw edema in Rats

Farhadi Moghadam B (B.Sc)[1], Fereidoni M (Ph.D)*[2], Asadollahi A (Ph.D)[3]

[1]M.Sc Student in Biology (Animal Physiology), Rayan Center for Neuroscience and Behavior, Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. [2]Associate Professor, Rayan Center for Neuroscience and Behavior, Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. [3]Assistant Professor, Rayan Center for Neuroscience and Behavior, Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Abstract

Background and Objective: Cyclooxygenase 1 and 2 activities on arachidonic fatty acids of cell membrane produces prostaglandins which involved in inflammatory processes. This study was done to evaluate the effect of hexanic and hydroalcoholic extract of *Cannabis sativa* flowers on inflammatory paw edema in rats.

Methods: In this experimental study, 56 male Wistar rats were allocated into the control, sham, sodium salicylate (300mg/kg/bw) and hydroalcoholic extract of heated flowers in 1, 10 and 50 mg/kg/bw, hydroalcoholic extract of unheated flowers in 50mg/kg/bw and hexanic extract of heated flower in 50mg/kg/bw, intraperitonally. 30 minutes after injection, inflammatory edema volume due to sub plantar injection of formalin (0.05 ml, 2.5%) measeared using plethysmometric method.

Results: Intraperitonally injection of 50mg/kg/bw, of hydroalcoholic and hexanic extracts of heated flowers significantly reduced in inflammatory paw edema induced by formalin ($P<0.05$). Also, 50mg/kg/bw, hydroalcoholic extract of unheated flowers reduced the inflammatory paw edema in comparison with heated extracts ($P<0.05$).

Conclusion: Hydroalcoholic extract of heated flowers decreased inflammation-induced paw edema in dose-dependent manner. The extract of unheated flowers, leads to more reduction of the inflammatory paw edema in comparison to heated flower extract, it can be due to carboxylated *cannabinoid* present in the hydroalcoholic extract of unheated flowers.

Keywords: *Cannabis sativa*, Edema, Lower limb, Rat

*** Corresponding Author: Fereidoni M (Ph.D), E-mail: fereidoni@um.ac.ir**

Received 10 Sep 2014 **Revised** 4 Mar 2015 **Accepted** 20 Apr 2015

Cite this article as: Farhadi Moghadam B, Fereidoni M, Asadollahi A. [Effect of hexanic and hydroalcoholic extract of *Cannabis sativa* flowers on inflammatory paw edema in Rats]. J Gorgan Uni Med Sci. 2016; 17(4): 30-35. [Article in Persian]