



دانشگاه علوم پزشکی کرمان
دانشکده دارو سازی و علوم دارویی

پایان نامه دکترای عمومی دارو سازی

عنوان :

بررسی اثر ضد دردی و ضد التهابی مشتق جدید ریجید شده ۴-
پروپوکسی بنزو پیرانی ۳ و ۲- دی هیدروکسی چالکون با تستهای
هات پلیت، فرمالین و پلتیسمو گرافی در موش سوری

توسط :

مهدی کلاتی

۱۳۸۸ / ۱۹ / ۱۰

کتابخانه مرکزی
تیمسار

به راهنمایی :

دکتر محمود رضا حیدری

شماره پایان نامه : ۵۲۳

بهار ۱۳۸۸

۱۲۷۳۹۱

تقدیم:

به پدرم؛ مردی که خلاصه خود است

آزاد و آرام ، نیک و مهربان در برابر زندگی

تو قادری کای بکنی که من بر بخشی درخشان تر از وجودم دست بگذارم .

به مادرم؛ که الهی ترین لحظه هستی انسان است

که می تواند به زندگی ، به هستی ، یکپارچه و ناب بنگرد

نگاهی که مرا به پرواز در می آورد .

همسر مهربانم ؛

عشق همچون یک جویبار باید در جنبشی پیوسته باشد، و تو با من نیز همین کرده ای
خداوند قلب مهربان تو را از نور مقدسش لبریز گرداند .

تقدیم به تو

تقدیم به برادران و خواهران عزیزم ;

که یاریشان روشنائی راهم بود .

تقدیم به خانواده بزرگوار همسر

که تشکر و اژہ اندکی است در برابر وسعت لطفشان .

با سپاس و تشکر از استاد ارجمندم

جناب آقای دکتر محمود رضا حیدری

که در طول نگارش و تدوین این طرح همواره راهنما و مشوقم بودند .

و تقدیم به تمام کسانی که از ایشان آموختم .

خلاصه

مقدمه: گزارشاتی دال بر اثر ضد دردی و ضد التهابی ۳ و ۴-دی هیدروکسی چالکون ها وجود دارد. در این تحقیق اثر ضد التهابی و ضد دردی مشتق ریجید شده ۳- (۳ و ۴-دی هیدروکسی بنزیلیدین) -۷- پروپوکسی بنزو پیران-۴-اون (مشتق پروپوکسی چالکون) با تست فرمالین، هات پلیت و کاراگینین اندازه گیری شد.

روش: دوزهای ۵۰mg/kg، ۷۵mg/kg و ۱۰۰mg/kg از پروپوکسی چالکون به موش ها تزریق و اثرات ضد دردی و ضد التهابی با تست فرمالین، هات پلیت و کاراگینین اندازه گیری شد. دوز موثر، با مرفین و ایبوپروفن مقایسه گردید.

یافته ها: در آزمون فرمالین و کاراگینین دوز ۷۵mg/kg پروپوکسی چالکون اثر ضد دردی قابل توجهی ایجاد نمود. در تست هات پلیت دوز ۷۵mg/kg در زمانهای ۴۵ و ۶۰ دقیقه اثر ضد دردی معنی دار ایجاد نمود. در تست های هات پلیت و فرمالین، اثر ضد دردی موثرترین دوز چالکون یعنی ۷۵mg/kg در تمام زمان ها کمتر از مرفین ۲/۵mg/kg بود. داروی مذکور در تست هات پلیت در زمانهای ۴۵ و ۶۰ دقیقه و در تست فرمالین در زمان ۵-۰ دقیقه اثر ضد دردی بیشتری نسبت به ایبوپروفن ۲۰۰mg/kg داشت، ولی در فاز مزمن تست فرمالین تقریباً برابر با ایبوپروفن بود. در تست کاراگینین اثر ضد التهاب پروپوکسی چالکون در ساعات اول و سوم بیشتر از مرفین و ایبوپروفن بود که نشان می دهد این دارو اثر ضد التهاب بیشتری دارد. در دوزهای ۷۵mg/kg و ۱۰۰mg/kg اثرات خواب آلودگی در موش ها مشاهده شد.

بحث و نتیجه گیری: نتایج نشان می دهد که با تغییرات روی ساختمان DHC ها، می توان به ترکیبات مؤثرتری نیز دست یافت که در نهایت، جهت استفاده از آن به عنوان داروی مسکن نیاز به مطالعات بالینی بیشتری دارد.

کلمات کلیدی: ۳- (۳و۴-دی هیدروکسی بنزیلیدین)-۷-پروپوکسی بنزوپیران-۴-ا، ضدالتهاپی، ضددردی، موش سوری

Summary

Introduction: There are many reports indicating the analgesic and anti-inflammatory effects of 3,4-dihydroxy chalcones. In this study antinociception and anti-inflammatory effects of rigid derivative 3-(3,4-dihydroxybenzylidene)-7-propoxy benzopyran-4-one (3,4- DHC), were evaluated by Formalin, Hot plate and Carageenan tests.

Methods: Doses of 50, 75 and 100 mg/kg of 3,4- DHC were injected to mice and the analgesic and anti-inflammatory effects evaluated by Formalin, Hotplate and Carageenan tests. Effective dose compared with Morphine and Ibuprofen.

Results: The result showed that, propoxy chalcone at the dose of 75mg/kg induced significant anti nociception and anti inflammation in Formalin and Carageenan tests.

The results showed that, the dose 75mg/kg of 3,4-DHC induces significant analgesia in 45 and 60 minutes in hot plate test. The analgesic effect of the most effective dose of 3,4- Dihydroxy chalcone 75mg/kg was lower than morphine (2.5 mg/kg) in both Formalin and Hot plate tests. The analgesic effect of DHC was higher than Ibuprofen (200mg/kg) in 0-5 minute in Formalin test and in 45 and 60 minutes in Hot plate test, but in chronic phase of Formalin test was nearly equal to Ibuprofen.

In Carageenan test, the anti-inflammatory effect of 3,4-DHC was higher than Ibuprofen (200mg/kg) and morphine (2.5 mg/kg) in the first and third hours. Therefore it seems that 3,4-DHC has better anti-inflammatory effect rather than analgesic effect. The doses of 75 and 100 mg/kg, induced lethargy in mice.

Conclusion: The results showed that the modification of this structure of DHC, lead to a more effective drivative with significant analgesic effect and but it need clinical trials to be used as an analgesic drug.

Key words:3-(3,4-dihydroxybenzylidene)-7-propoxy benzopyran-4-one, Anti inflammation, Anti nociception, Mice.

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
I.....	خلاصه فارسی.....
III.....	خلاصه انگلیسی.....
V.....	فهرست مطالب.....

فصل اول: مقدمه

۲.....	۱-۱- هدف و انگیزه.....
۴.....	۱-۲- التهاب.....
۴.....	۱-۳- درد.....
۴.....	۱-۳-۱- تعریف درد.....
۵.....	۱-۳-۲- انواع درد و کیفیت آنها.....
۵.....	۱-۳-۳- گیرنده‌های درد و تحریک آنها.....
۶.....	۱-۳-۴- ماهیت غیر سازشی گیرنده های درد.....
۶.....	۱-۳-۵- مسیر هدایت پیام های درد به دستگاه مرکزی اعصاب.....
۷.....	۱-۳-۶- درک درد.....
۷.....	۱-۳-۷- سیستم سرکوب درد در مغز و نخاع.....
۸.....	۱-۴- داروهای ضد درد.....
۸.....	۱-۴-۱- داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی (NSAIDs).....

عنوان	صفحه
۱-۴-۲- داروهای مسکن اپیوئیدی	۹
فصل دوم: مواد، دستگاهها و روشها	
۱-۲- دستگاهها، وسایل و مواد مورد استفاده	۱۳
۱-۱-۲- لوازم و دستگاهها.....	۱۳
۲-۱-۲- مواد مورد استفاده.....	۱۳
۲-۲- روش کار.....	۱۴
۱-۲-۲- حیوان مورد آزمایش و شرایط آزمایشگاهی نگهداری حیوانات.....	۱۴
۲-۲-۲- تهیه محلولهای تزریقی مشتق پروپوکسی دی هیدروکسی چالکون.....	۱۴
۳-۲-۲- آزمونهای فارماکولوژی جهت بررسی اثرات ضد دردی و ضد التهابی.....	۱۵
۱-۳-۲-۲- تست فرمالین Formalin test	۱۵
۲-۳-۲-۲- آزمون Hot Plate	۱۶
۳-۳-۲-۲- تست کاراگینین Carageenan test	۱۷
۴-۲-۲- آنالیز آماری	۱۸

فصل سوم: نتایج

۱-۳- مقایسه اثر ضد دردی دوزهای مختلف پروپوکسی دی هیدروکسی چالکون با گروه حامل در فاز حاد به روش فرمالین	۲۱
۲-۳- مقایسه اثر ضد التهابی و ضد دردی دوزهای مختلف پروپوکسی دی هیدروکسی چالکون با گروه حامل در فاز مزمن به روش فرمالین.....	۲۱

عنوان	صفحه
۳-۳- مقایسه پاسخ ضد دردی مؤثرترین دوز پروپوکسی دی هیدروکسی چالکون با مرفین و ایبوپروفن به روش فرمالین در فاز حاد.....	۲۱
۴-۳- مقایسه پاسخ ضد التهابی و ضد دردی مؤثرترین دوز پروپوکسی دی هیدروکسی چالکون با مرفین و ایبوپروفن به روش فرمالین در فاز مزمن.....	۲۲
۵-۳- مقایسه اثر ضدالتهابی دوزهای مختلف پروپوکسی دی هیدروکسی چالکون با گروه حامل با تست کاراگینین.....	۲۲
۶-۳- مقایسه اثر ضدالتهابی مؤثرترین دوز پروپوکسی دی هیدروکسی چالکون با مرفین و ایبوپروفن با تست کاراگینین.....	۲۲
۷-۳- مقایسه پاسخ ضد دردی مؤثرترین دوز پروپوکسی دی هیدروکسی چالکون با مرفین و ایبوپروفن به روش Hot plate.....	۲۳
فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری	
۱-۴- بحث و نتیجه گیری.....	۳۴
۲-۴- پیشنهادات.....	۴۰
فصل پنجم: منابع	
منابع.....	۴۲

فصل اول :

مقدمه

۱-۱- هدف و انگیزه

التهاب یک پاسخ محافظتی و طبیعی که به مجموعه ای از تغییرات بافتی گفته می شود که بافت ها در برابر آسیب ناشی از عوامل میکروبیولوژیک، ضربه، مواد شیمیایی و هر پدیده ای دیگر از خود نشان می دهند (۱، ۲ و ۳).

التهاب حاد، پاسخ ابتدائی به آسیب نسجی و با واسطه آزاد شدن هیستامین، برادی کینین، سروتونین، پروستاگلاندین ها و لکوترین ها ایجاد می شود. در التهاب مزمن واسطه هایی که در پاسخ حاد نقش مهمی ندارند مانند اینترلوکین ها، $TNF\alpha$ و اینترفرون ها آزاد می شوند و می توانند باعث درد و تخریب بافت ها شوند (۲ و ۴). آراشیدونیک اسید در مسیر سیکلواکسیژناز پروستاگلاندین ها و پروستاگلین ها را تولید می کند که اثرات مختلفی بر عروق خونی، پایانه های عصبی و سلول های دخیل در التهاب دارند. مسیر لیپواکسیژناز متابولیسم آراشیدونیک اسید، باعث ایجاد لکوترین ها می شود که اثر کموتاکتیک پر قدرت برائوزینوفیل ها و ماکروفاژها دارند. قابل پیش بینی است که با مهار آنزیم های سیکلواکسیژناز و لیپواکسیژناز، می توان فرایند التهاب را کنترل نمود، بخصوص با مهار آنزیم ۵- لیپواکسیژناز امیدها در مورد درمان انواع بیماریهای التهابی و آلرژیک افزایش یافته است (۱، ۴ و ۵).

درد اصولاً یکی از مکانیسم های محافظ بدن و نشانه عمومی اکثر بیماری هاست و زمانی ایجاد می شود که بافت های بدن تخریب شوند و بدین ترتیب موجب واکنش شخص برای دفع محرک دردزا می شود (۶).

امروزه از داروهای ضددرد و ضدالتهاب صناعی، جهت کاهش درد و التهاب استفاده می شود که با احتمال بروز عوارض جانبی از جمله ایجاد وابستگی، ایجاد زخم های گوارشی و عوارض دیگر همراه

است. با توجه به این عوارض نامطلوب، تحقیقات برای کشف داروهایی که علاوه بر داشتن کارایی مطلوب، عوارض کمتری نیز داشته باشند انجام شده و مقالات متعددی به چاپ رسیده است (۹و۸،۷). طی تحقیقات اخیر توسط پژوهشگران، گزارش شده دی هیدروکسی چالکون ها نقش مهمی در کاهش التهاب ایفا می کنند. دی هیدروکسی چالکون ها آنزیم های سیکلواکسیژناز و ۵-لیپواکسیژناز را در اپی دیدیم موش مهار می کنند و همچنین با مهار آنزیم inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS)، سنتز NO را مهار می کنند و از تولید ایترترون گاما نیز جلوگیری می کنند. NO عملکرد طبیعی بافت هارادر طی فازهای التهابی حاد و مزمن تخریب می کند و از طرفی تولید مدياتورهای التهابی مانند $TNF\alpha$ و اینترلوکین ۱ را مهار می کند (۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴ و ۱۵). در ضمن دی هیدروکسی چالکون ها سریعاً و به میزان زیادی پس از مصرف سیستمیک متابولیزه می شوند و سمیت زیادی ندارند (۱۶ و ۵).

با توجه به تحقیقات و مقالات متعدد می توان نتیجه گرفت که مشتقات مختلف دی هیدروکسی چالکون ها، اثر ضد التهابی و ضد دردی مطلوب دارند که بایستی روی ترکیبات مختلف ریجید شده از چالکون ها تحقیق کرد (۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰ و ۲۱).

در این تحقیق اثرات ضد التهابی و ضد دردی ترکیب جدید ریجید شده ۳- (۳ و ۴- دی هیدروکسی بنزیلیدین) -۷- پروپوکسی بنزوپیران-۴-اون به صورت *invivo* با تست فرمالین، هات پلیت و کاراگینین در موش سوری نر مورد بررسی قرار می گیرد که در نهایت پس از انجام تحقیقات تکمیلی می تواند منجر به ارائه پیشنهاد های لازم برای یک داروی جدید ضد درد و ضد التهاب شود.

۱-۲- التهاب

هنگامی که بافت ها بر اثر عوامل میکروبیولوژیک، ضربه فیزیکی، مواد شیمیایی، گرما یا هر پدیده دیگر آسیب ببینند، مواد متعددی از آنها رها می شود که سبب تغییرات ثانویه در بافت می گردد، به مجموعه این تغییرات بافتی التهاب می گویند. مشخصات التهاب عبارتند از: ۱- اتساع عروق خونی و در نتیجه افزایش جریان خون موضعی، ۲- افزایش نفوذپذیری مویرگ ها به همراه انتشار مقدار زیادی مایع به درون فضاهای میان بافتی، ۳- غالباً لخته شدن مایع در فضاهای میان بافتی به علت نشت مقادیر بیش از حد فیبرینوژن و سایر پروتئین ها از مویرگ ها، ۴- مهاجرت تعداد زیادی گرانولوسیت و مونوسیت به درون بافت، ۵- تورم سلول های بافت آسیب دیده.

واسطه های شیمیایی اختصاصی متنوعی با توجه به نوع فرایند التهاب وجود دارند که عبارتند از: هیستامین، برادی کینین، سروتونین، پروستاگلاندین ها، فراورده های واکنشی دستگاه انعقاد خون و چندین ماده هورمونی به نام لئوکین که از سلول های حساس شده T آزاد می شوند (۱، ۲۲، ۲۳ و ۲۴).

۱-۳- درد

۱-۳-۱- تعریف درد

درد بطور عمده یک مکانیسم طبیعی و محافظ بدن است که در اکثر بیماری ها بروز می کند و هنگامی که بافت دچار آسیب می شود، به وجود می آید و موجب می شود که شخص از خود واکنش نشان دهد تا محرک درد را دفع کند (۶).

۱-۳-۲- انواع درد و کیفیت آنها

درد به دو نوع عمده تقسیم می‌شود: درد تند و درد کند.

درد تند پس از حدود ۱/۰ ثانیه از بروز محرک دردزا احساس می‌شود، در حالی که درد کند پس از یک ثانیه از اعمال محرک احساس می‌شود و سپس به تدریج طی چند ثانیه و یا حتی چند دقیقه افزایش پیدا می‌کند. درد تند و تیز در اکثر بافت‌های عمقی تر بدن احساس نمی‌شود. درد آهسته معمولاً با تخریب بافتی همراه است. چنین دردی به آزرده‌گی‌های طولانی مدت و غیرقابل تحمل منجر می‌شود. این نوع درد هم در پوست و هم تقریباً در تمام اعضا یا بافت‌های عمقی بدن می‌تواند ایجاد شود (۶).

۱-۳-۳- گیرنده‌های درد و تحریک آنها

تمام گیرنده‌های درد، پایانه‌های عصبی آزاد هستند که به طور اختصاص یافته‌ای برای دریافت تحریکات دردناک می‌باشند و در تمامی بافت‌های بدن به جزء مغز وجود دارند. گیرنده‌های درد با سه نوع محرک مکانیکی، حرارتی و شیمیایی تحریک می‌شوند، از این رو این گیرنده‌ها را به سه نوع مکانیکی، حرارتی و شیمیایی تقسیم بندی می‌کنند. درد سریع عموماً در اثر محرک‌های مکانیکی و حرارتی برانگیخته می‌شود، در حالی که درد کند می‌تواند توسط هر سه نوع محرک برانگیخته شود. محرک‌های شیمیایی مانند اسیدها، سروتونین، یون‌های پتاسیم، هیستامین، برادی‌کینین، استیل‌کولین و آنزیم‌های پروتئولیتیک از طریق ایجاد آسیب بافتی و یا ایسکمی منجر به بروز درد می‌شوند. پروستاگلاندین‌ها و ماده P می‌توانند حساسیت پایانه‌های مربوط به درد را زیادکنند ولی مستقیماً آنها را تحریک نمی‌کنند (۶ و ۲۵).

۱-۳-۴- ماهیت غیر سازشی گیرنده های درد

گیرنده های درد بر خلاف بیشتر گیرنده های حسی بدن، سازش ناچیزی می یابند و گاه اصلاً سازش نمی یابند. در واقع تحریک فیبرهای درد در برخی شرایط به تدریج افزایش می یابد، این افزایش حساسیت گیرنده های درد را، پردردی می گویند. این عدم سازش گیرنده های درد باعث خواهد شد تا زمانی که محرک آسیب رسان دردزا وجود دارد، شخص از آن با خبر می ماند (۶).

۱-۳-۵- مسیر هدایت پیام های درد به دستگاه مرکزی اعصاب

باتوجه به اینکه گیرنده های درد از نوع پایانه های عصبی آزاد هستند، ولی از مسیر مجزا برای ارسال پیام به دستگاه مرکزی اعصاب استفاده می کنند.

مسیر اول: پیام های درد تند و تیز که به واسطه محرک های مکانیکی و حرارتی برانگیخته می شوند، توسط فیبرهای کوچک نوع آ- دلتا ($A\delta$) و با سرعت ۳۰-۶ متر در ثانیه به سمت نخاع هدایت می گردند.

مسیر دوم: درد کند و مزمن توسط هر سه نوع محرک ایجاد می شود ولی بیشتر بواسطه محرک های دردزای شیمیایی برانگیخته می شوند، توسط فیبرهای نوع C و با سرعت ۲-۰/۵ متر در ثانیه هدایت می شوند.

این سیستم دوگانه عصب گیری درد باعث می شود که درد ناشی از محرک دردزا غالباً به صورت مضاعف احساس شود. درد تیز، فرد را سریعاً از محرک آسیب رسان مطلع می کند ولی درد کند، معمولاً با گذشت زمان به تدریج بیشتر می شود. این احساس در نهایت به صورت دردی زجرآور، طولانی و غیر قابل تحمل درمی آید و فرد را وادار به رفع علت می سازد (۶ و ۲۵).

۱-۳-۶- درک درد

به نظر می‌رسد درک درد به طور عمده بایستی در مراکز تحتانی مغز مانند سیستم مشبک و تالاموس صورت گیرد. ظاهراً نواحی تحتانی، در درک درد زجرآور اهمیت دارند، زیرا در حیواناتی که ارتباط مزانسفال آنها با مراکز بالاتر قطع شده، شواهدی از درد زجرآور را در صورت آسیب دیدن هر نقطه‌ای از بدن نشان می‌دهند.

سیستم عصبی انسان توانایی ارائه نسبتاً دقیقی از محل درد سریع را در اختیار دارد، اما در مورد درد آهسته نمی‌توانیم بطور جزئی و در یک نقطه مشخص از بدن آن را احساس کنیم (۶).

۱-۳-۷- سیستم سرکوب درد در مغز و نخاع

سیستم‌های ویژه‌ای برای تنظیم و کنترل پیام‌های آوران حس درد در سیستم عصبی انسان وجود دارد. ۱- تحریک الکتریکی نقاط خاص در مغز می‌تواند بسیاری از پیام‌های قوی درد را که از ریشه‌های خلفی نخاع وارد می‌شوند، به طور کلی مهار کند.

۲- واسطه‌های شیمیایی متعددی در سیستم ضد درد دخیل اند که انکفالین و سرتونین نقش مهمتری دارند، که به طور طبیعی در انتهای بعضی نورون‌های مرکزی ساخته و رها می‌شوند و می‌توانند درد را متوقف سازند. این مواد به گیرنده‌های مخصوص خود متصل می‌شوند. این گونه تسکین ممکن است توسط داروهای ضد مرفینی و ضد انکفالین‌ها (مثلاً نالوکسان) حذف شده یا از بروز آن جلوگیری شود. بسیاری از فیبرهای عصبی مشتق شده از نواحی مختلف مغز مانند هسته‌های دور بطنی و هسته سجافی بزرگ، در صورت تحریک انکفالین آزاد می‌سازند و نیز فیبرهای برخاسته از این نواحی که به شاخه خلفی نخاع منتهی می‌شوند، از پایانه خود سرتونین ترشح می‌کنند. سرتونین نورون‌های موضعی نخاع را وادار به ترشح انکفالین می‌سازد. انکفالین باعث مهار پیش سیناپسی و پس سیناپسی