



Comparison of Analgesic Effect of Ethanolic Extract of *Scrophularia Megalanta* and Diclofenac in Male Rats

ARTICLE INFO

Article Type

Research Article

Authors

Soufiabadi M.* PhD

ABSTRACT

Aims Considering the numerous side effects of common analgesic drugs, finding proper analgesic drugs is important. The *Scrophularia* is a plant that contains appropriate anti-inflammatory compounds. In this study the analgesic effect of diclofenac drug and ethanolic extract made of aerial parts of *Scrophularia Megalanta* was studied in male rats by formalin inflammatory model.

Methods Using 48 male rats and applying the formalin test pain model, the pain behavior was examined by intraperitoneal injection of 25, 50, 100 and 200mg/kg concentrations of extract in four treatment groups with diclofenac and control groups. Observation of pain behavior was done for each 15 seconds and total of 60 minutes after the formalin injection and the collected data was calculated for each rat averagely. The findings of different groups of the test at two acute and chronic stages was separately analyzed using one-way ANOVA and Tukey tests using SPSS 15 software.

Results Both acute and chronic phases of pain resulting from the formalin injection were observed in all groups. In the acute phase, administration of 50mg ($p<0.05$), 100mg ($p<0.01$) and 200mg ($p<0.001$) doses of *Scrophularia Megalanta* extract decreased the symptoms of pain compared with the control group. Likewise, in the chronic phase, administration of the extract in all used doses caused a significant reduction in pain compared to the control group, especially at minutes 15-40 of the test which was greater in doses of 100 and 200mg.

Conclusion Peripheral injection of the ethanolic extracts of *Scrophularia Megalanta* has central and peripheral anti-analgesic effect.

Keywords *Scrophularia Megalanta*; Pain Measurement, Rats

*"Cellular & Molecular Research Center" & "Department of Physiology, Faculty of Medicine", Qazvin University of Medical Science, Qazvin, Iran.

Correspondence

Address: Physiology Department, Medical Faculty, Qazvin University of Medical Sciences, Shahid Bahonar Boulevard, Qazvin, Iran.
Postal Code: 3419759811
Phone: +989128811731
Fax: +982813324971
mohasofi@yahoo.com

Article History

Received: December 3, 2011
Accepted: March 4, 2013
ePublished: March 10, 2013

CITATION LINKS

[1] Opioid complications and side ... [2] A review of NSAID complications: Gastrointestinal and ... [3] Asian ginseng: Potential therapeutic ... [4] The effect of *Elaeagnus angustifolia* L. leaves extract on pain of male ... [5] Whatever happened to the ... [6] Biologically active substances from the genus ... [7] Plants used against cancer-an extension of the work of ... [8] Molecular authentication of geo-authentic ... [9] Selective cytotoxic and cytostatic activity of some phenyl propanoid ... [10] Suppression of nitric oxide production in activated murine ... [11] Inhibition of the pro-inflammatory mediators' production and anti-inflammatory effect of the ... [12] Flavonoids, cinnamic acid and phenyl propanoid from aerial parts of ... [13] Intra-periaqueductal gray matter microinjection of orexin-A decreases formalin-induced nociceptive behaviors in adult male ... [14] Involvement of serotonergic mechanism in analgesia by castration and ... [15] Effect of subcutaneous administration of the chemical halogen ... [16] Action of flavonoids and the novel anti-inflammatory flavone, ... [17] Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Elaeagnus angustifolia* fruit ... [18] Anti-inflammatory activities of alpha-truxillic acid derivatives ... [19] Antiinflammatory flavonoids from *Opuntia dillenii* (Ker-Gawl) Haw: ... [20] Quercetin reduces inflammatory pain: Inhibition of oxidative ... [21] Quercetin: Further investigation of its antinociceptive properties and mechanisms of action. [22] CNGA3: A target of spinal nitric oxide/cGMP signaling and ... [23] SNO-ing at the nociceptive ...

مقایسه اثر ضددردی عصاره اتانولی اسکروفولاریا مگالاتا و دیکلوفناک در موش‌های صحرایی نر

محمد صوفی آبادی* PhD

*مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی و گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

چکیده

اهداف: با توجه به عوارض فراوان داروهای ضددردی رایج، یافتن داروهای مسکن مناسب‌تر اهمیت دارد. در علف خنازیر ترکیبات ضدالتهابی مناسبی یافت می‌شوند. در این پژوهش اثر ضددردی داروی دیکلوفناک و عصاره اتانولی تهیه‌شده از بخش‌های هوایی علف خنازیر، در موش‌های صحرایی نر با مدل درد التهابی فرمالین بررسی شد.

روش‌ها: با استفاده از ۴۸ سر موش صحرایی نر و به‌کارگیری مدل درد آزمون فرمالین، رفتار دردی با تزریق درون‌صفاقی غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره در ۴ گروه تیمار با گروه‌های کنترل و دیکلوفناک بررسی شد. مشاهده رفتار درد هر ۱۵ ثانیه و در کل به مدت ۶۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین انجام و اطلاعات به‌دست‌آمده برای هر موش به‌طور میانگین محاسبه شد. یافته‌های گروه‌های مختلف آزمون در هر دو مرحله حاد و مزمن به‌طور جداگانه با آزمون‌های آنالیز واریانس یک‌طرفه و توکی با استفاده از نرم‌افزار SPSS 15 تحلیل شد.

یافته‌ها: هر دو فاز حاد و مزمن درد ناشی از تزریق فرمالین در تمام گروه‌ها مشاهده شد. تجویز عصاره علف خنازیر با دوزهای ۵۰ ($p < 0/05$)، ۱۰۰ ($p < 0/01$) و ۲۰۰ میلی‌گرم ($p < 0/001$) در فاز حاد، علامت درد را نسبت به گروه کنترل کاهش داد. در فاز مزمن نیز تجویز عصاره در تمامی دوزهای مورد استفاده موجب کاهش معنی‌دار درد نسبت به گروه کنترل به ویژه در دقایق ۴۰-۱۵ آزمون شد که این تفاوت در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بیشتر بود.

نتیجه‌گیری: تزریق محیطی عصاره اتانولی علف خنازیر اثر ضددردی مرکزی و محیطی دارد.

کلیدواژه‌ها: علف خنازیر، سنجش درد، موش‌های صحرایی نر

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۹/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۲/۱۴

*نویسنده مسئول: mohasofi@yahoo.com

مقدمه

درد یکی از علامت‌های شایع بسیاری از بیماری‌ها و اغلب نشانه آسیب بافت‌هاست. درد مزمن، آزاردهنده است و باعث رجوع بیمار برای درمان می‌شود. از طرف دیگر، به دلیل سختی تحمل درد، تسکین آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در حال حاضر، داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی و مخدرها به‌عنوان مسکن، با وجود عوارض جانبی متعدد، بیشترین مصرف را دارند [۱، ۲]. بنابراین کشف و تولید ترکیبات ضددردی جدید که عوارض جانبی

مسکن‌های رایج را نداشته باشند از اهمیت زیادی برخوردار است. با توجه به بازگشت گیاهان دارویی در بیشتر کشورهای دنیا و رویش انواع مختلف گیاهان دارویی در ایران، بررسی اثر ضددردی آنها اهمیت زیادی پیدا کرده است [۳].

علف خنازیر گیاهی است با توزیع جهانی که اغلب در مناطق معتدل و گرمسیری روئیده و از گذشته در امر درمان مورد استفاده قرار گرفته است [۴، ۵]. تاکنون اثرات متعدد درمانی از گونه‌های مختلف این گیاه، مثل اثر ضدسرطانی، فعالیت ضدجوشی و مُدر گزارش شده است [۸-۶]. در طب چینی، از گونه نینگچوئیزس آن در درمان تب، تعریق، یبوست، فارنژیت، بیماری‌های عصبی و لارنژیت استفاده می‌شود [۸]. همچنین استفاده از گونه آلدھامیک در طب سنتی به‌منظور درمان بیماری‌های التهابی توصیه می‌شود [۹]. در همین زمینه، گونه استریاتای آن که اهمیت دارویی زیادی دارد، قادر است تولید نیتریک‌اکساید را مهار نماید [۱۰]. مطالعات متعددی خاصیت ضدالتهابی گونه‌های مختلف علف خنازیر را نشان می‌دهند. برای مثال گزارش شده که ترکیبات اسکروالتینوزوئیدی موجود در عصاره این گیاه، اِدم گوش ناشی از تزریق اکسازولون را در گوسفندان کاهش و تولید واسطه‌های پیش‌التهابی را مهار می‌نماید [۱۱]. به علاوه ترکیباتی مانند سینامیک‌اسید، نیپترین، ایزورهمانتین-۳-O-روتینوزید، کوئرستین و فیل پروپانوئیدگلیکوزید (آستئوزید) از بخش‌های مختلف این گیاه، استخراج شده است که می‌توانند اثر ضدالتهابی داشته باشند [۱۲].

با وجود رویش علف خنازیر در ایران هنوز اثرات مختلف و اجزای آن به درستی شناسایی نشده است. با توجه به گزارش‌های متعدد در مورد اثرات ضدالتهابی این گیاه، در این پژوهش اثر ضددردی داروی دیکلوفناک و عصاره اتانولی تهیه‌شده از بخش‌های هوایی علف خنازیر، در موش‌های صحرایی نر با مدل درد التهابی فرمالین بررسی شد.

روش‌ها

در این مطالعه تجربی از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شد که در حیوان‌خانه با حرارت حدود ۲۳°C و طول دوره روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعت به‌صورت گروه‌های شش‌تایی در قفس‌های فایبرگلاس نگهداری شدند و دسترسی به غذا و آب کافی داشتند. این حیوانات به‌طور تصادفی به ۶ گروه ۸تایی تقسیم شدند.

بخش‌های هوایی علف خنازیر از استان ایلام جمع‌آوری و پس از تایید هر بار بوم مرکز تحقیقات جهاد دانشگاهی، در سایه خشک و سپس آسیاب شد و با روش سوکسیله از آن عصاره اتانولی تهیه [۵] و پس از خشک‌سازی به صورت پودر در آورده و در فریزر نگهداری شد.

پنجه تزریق شده بود [۱۳]. مشاهده رفتار درد هر ۱۵ ثانیه و در کل به مدت ۶۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین انجام و اطلاعات به دست آمده برای هر موش به طور میانگین محاسبه شد. از دقیقه صفر تا دقیقه ۷ ابتدایی به عنوان فاز حاد، ۸ تا ۱۳ به عنوان اینترفاز و ۱۴-۶۰ دقیقه انتهایی آزمون به عنوان فاز مزمن محسوب شد. یافته‌های گروه‌های مختلف آزمون در هر دو مرحله حاد و مزمن به طور جداگانه با آزمون‌های آنالیز واریانس یک طرفه و توکی با استفاده از نرم افزار SPSS 15 تحلیل شد.

نتایج

هر دو فاز حاد و مزمن درد ناشی از تزریق فرمالین در تمام گروه‌ها مشاهده شد. تجویز عصاره علف خنازیر با دوزهای ۵۰ ($p < 0.05$)، ۱۰۰ ($p < 0.01$) و ۲۰۰ میلی‌گرم ($p < 0.001$) در فاز حاد، علامت درد را نسبت به گروه کنترل کاهش داد (جدول ۱).

گروه کنترل مورد تزریق داخل صفاقی حلال و گروه دیکلوفناک مورد تزریق داخل صفاقی ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم داروی دیکلوفناک سدیم (Basel؛ سوئیس) قرار گرفتند. ۴ گروه تیمار که عصاره گیاه را با یکی از دوزهای ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ یا ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند. هنگام آزمایش، عصاره با ۱۰ لاندانول حل شد و سپس با افزودن بافر فسفات به حجم نیم میلی‌لیتر رسانده و به درون صفاق موش‌ها تزریق شد و نیم‌ساعت پس از آن، ۵۰ میکرولیتر محلول فرمالین ۲/۵٪ به زیر پوست کف پای راست حیوان تزریق شد. سپس موش‌ها به جعبه مخصوص از جنس پلکسی‌گلاس در ابعاد ۲۵×۲۵×۴۰ سانتی‌متر که آینه داشت منتقل و رفتار دردی آنها ثبت شد. در نمره‌دهی به علایم درد "صفر" به معنی نگهداشتن وزن به طور مساوی روی هر دو پا، "۱" به معنی لنگش هنگام راه رفتن یا گذاشتن ناخن به کف قفس، "۲" به معنی بالا نگهداشتن پنجه تزریق شده و "۳" به معنی گاز گرفتن یا لیسیدن

جدول ۱) نتایج میزان درد در فازهای حاد، مزمن و اینترفاز به تفکیک ۶ گروه مورد مطالعه

گروه	حاد	سطح معنی داری	مزمن	سطح معنی داری	اینترفاز	سطح معنی داری
کنترل	۱/۶۳±۰/۲۹	-	۰/۵۸±۰/۱۹	-	۱/۹۹±۰/۰۶	-
دیکلوفناک	۱/۷۴±۰/۱۶	>۰/۰۵	۰/۵۴±۰/۰۵	>۰/۰۵	۱/۷۲±۰/۰۶	<۰/۰۱
تیمار ۲۵	۱/۳۶±۰/۲۷	>۰/۰۵	۰/۵۲±۰/۰۷	>۰/۰۵	۱/۷۱±۰/۰۴	<۰/۰۵
تیمار ۵۰	۰/۹۵±۰/۰۹	<۰/۰۵	۰/۲۹±۰/۰۸	>۰/۰۵	۱/۷۶±۰/۰۶	<۰/۰۵
تیمار ۱۰۰	۰/۹۰±۰/۰۴	<۰/۰۱	۰/۳۳±۰/۰۴	>۰/۰۵	۱/۱۲±۰/۰۴	<۰/۰۰۱
تیمار ۲۰۰	۰/۶۳±۰/۰۲	<۰/۰۰۱	۰/۱۸±۰/۰۴	>۰/۰۵	۱/۰۴±۰/۰۴	<۰/۰۰۱

به عنوان مدل معتبری از درد کلینیکی شناخته شده است. فرمالین اثر محرک خود را در دو مرحله نشان می‌دهد. فاز اول یا فاز حاد که بلافاصله بعد از تزریق فرمالین شروع شده و به مدت ۵ دقیقه ادامه می‌یابد. دومین فاز ۲۰-۱۵ دقیقه بعد از تزریق فرمالین آغاز و تا حدود یک ساعت تداوم می‌یابد. فاز اول نتیجه تحریک گیرنده‌های حس درد در محل تزریق بوده و دومین فاز هم به فرآیندهای التهابی و تشدید درد بر اثر حساس شدن نورون‌های سیستم مرکزی درد مربوط می‌شود [۱۵-۱۳].

با توجه به یافته‌های این پژوهش، از آنجایی که عصاره بخش‌های هوایی علف خنازیر درد را در هر دو فاز به ویژه مرحله دوم کاهش می‌دهد، بنابراین مواد موثر در آن دارای آثار هم محیطی و هم مرکزی هستند که البته اثر محیطی آنها بارزتر است. داروهای دارای اثر محیطی عمدتاً از طریق کاهش التهاب عمل می‌کنند [۱۵]. هنوز نمی‌توان قضاوت کاملی در مورد مکانیسم عمل ضدردی عصاره این گیاه داشت. بر پایه یافته‌های مطالعات قبلی و با عنایت به وجود مقادیر قابل توجهی از فلاونوئیدها (مثل سینامیک اسید، نیپترین، ایزورهمانتین-۳-O-روتینوزید، کوئرستین و آستیزید) در بخش‌هایی از این گیاهان [۱۲] و اثبات اثر فلاونوئیدها بر مهار سنتز

در فاز مزمن نیز تجویز عصاره در تمامی دوزهای مورد استفاده موجب کاهش معنی‌دار درد نسبت به گروه کنترل به ویژه در دقایق ۴۰-۱۵ آزمون شد که این تفاوت در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بیشتر بود (جدول ۱).

پاسخ گروه‌های تیمار با گروه کنترل در مرحله اینترفاز معنی‌دار نبود. تزریق داروی ضدالتهاب دیکلوفناک با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن، درد را فقط در فاز مزمن کم کرد ($p < 0.008$) و بر رفتار دردی موش‌ها در فاز حاد تاثیری نداشت. اثر عصاره به ویژه در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم از دیکلوفناک قوی‌تر بود.

بحث

عصاره علف خنازیر در غلظت‌های به کاررفته موجب کاهش علایم درد در هر دو فاز حاد و مزمن آزمون فرمالین شد که این اثر وابسته به دوز بود و بیشترین تسکین درد در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن حاصل شد.

امروزه در مطالعات رفتاری و الکتروفیزیولوژی به طور وسیعی از فرمالین به عنوان یک محرک دردزا استفاده می‌شود و این آزمون

8- Chuan C, Li-na Duan, Xiao-long Z, Bing-long C, Cheng-xin F. Molecular authentication of geo-authentic *Scrophularia ningpoensis*. *J Zhejiang Univ Sci*. 2011;12(5):393-8.

9- Saracoglu I, calis I, Inone M, Ogihara Y. Selective cytotoxic and cytostatic activity of some phenyl propanoid glycosides. *Fintoterapia*. 1997;68:434-8.

10- Azadmehr A, Afshari A, Baradaran B, Hajiaghaee R, Rezazadeh S, Monsef-Esfahani H. Suppression of nitric oxide production in activated murine peritoneal macrophages in vitro and ex vivo by *Scrophularia striata* ethanolic extract. *J Ethnopharmacol*. 2009;124(1):166-9.

11- Bas E, Recio M, Abdallah M, Mane Z, Gine R, Cerda-Nicolas M, et al. Inhibition of the pro-inflammatory mediators' production and anti-inflammatory effect of the iridoid scrovalentinoside. *J Ethnopharmacol*. 2007;110(3):419-27.

12- Monsef-Esfahani HR, Hajiaghaee R, Shahverdi AR, Khorramizadeh MR, Amini M. Flavonoids, cinnamic acid and phenyl propanoid from aerial parts of *Scrophularia striata*. *Pharm Biol*. 2010;48(3):333-6.

13- Azhdari Zarmehri H, Semnanian S, Fathollahi Y, Erami E, Khakpay R, Azizi H, et al. Intra-periaqueductal gray matter microinjection of orexin-A decreases formalin-induced nociceptive behaviors in adult male rats. *J Pain*. 2011;12(2):280-7.

14- Mohajjel Nayebe A, Rezazadeh H. Involvement of serotonergic mechanism in analgesia by castration and flutamide, a testosterone antagonist, in the rat formalin test. *Pharmacol Biochem Behav*. 2004;77(1):9-14.

15- Puig S, Rivot JP, Benson JM. Effect of subcutaneous administration of the chemical halogen formalin, on 5-HT metabolism in the nucleus raphe Magnus and freely moving rats. *Brain Res*. 1992;36(5):112-24.

16- Alcaraz MG, Hoult RS. Action of flavonoids and the novel anti-inflammatory flavone, Hypolaetin-8-Glucoside, on prostaglandins biosynthesis and activation. *Biol Pharmacol*. 1985;34:2477-82.

17- Ahmadiani A, Hosseiny J, Semnanian S. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Elaeagnus angustifolia* fruit extract. *J Ethnopharmacol*. 2000;72(1-2):287-92.

18- Chi YM, Nakamura M, Yoshizawa T, Zhao XY, Yan WM, Hashimoto F, et al. Anti-inflammatory activities of alpha-truxillic acid derivatives and their monomer components. *Biol Pharm Bull*. 2005;28(9):1776-8.

19- Ahmed MS, Tanbouly ND, Islam WT, Sleem AA, Senousy AS. Antiinflammatory flavonoids from *Opuntia dillenii* (Ker-Gawl) Haw: Flowers growing in Egypt. *Phytother Res*. 2005;19(9):807-9.

20- Valerio DA, Georgetti SR, Magro DA, Casagrande R, Cunha TM, Vicentini FT, et al. Quercetin reduces inflammatory pain: Inhibition of oxidative stress and cytokine production. *J Nat Prod*. 2009;72(11):1975-9.

21- Filho AW, Filho VC, Olinger L, de Souza MM. Quercetine: Further investigation of its antinociceptive properties and mechanisms of action. *Arch Pharm Res*. 2008;31(6):713-21.

22- Heine S, Michalakos S, Kallenborn-Gerhardt W, Lu R, Lim HY, Weiland J, et al. CNGA3: A target of spinal nitric oxide/cGMP signaling and modulator of inflammatory pain hypersensitivity. *J Neurosci*. 2011;31(31):11184-92.

23- Tegeder I, Scheving R, Wittig I, Geisslinger G. SNO-ing at the nociceptive synapse? *Pharmacol Rev*. 2011;63(2):366-89.

پروستاگلاندین‌ها که در مکانیسم بروز و تشدید دردهای التهابی نقش دارند [۱۶، ۱۷] و همچنین وجود گزارشات در مورد کاهش التهاب موش‌ها در اثر مصرف ایزورهامنتین و اسیدسینانمیک و مواد شبیه آن مثل آلفاتروکسیلیک‌اسید [۱۸، ۱۹] و بیواکتیو بودن کوئرستین و نقش آن در کاهش سایتوکاین‌های التهابی [۲۰، ۲۱]، اثر ضددردی عصاره مصرفی در این مطالعه احتمالاً ناشی از مهار تولید پیش‌فاکتورهای التهابی و در نتیجه مهار التهاب است؛ یعنی مکانیسم ضددردی محیطی اهمیت بیشتری می‌یابد و احتمالاً مهم‌ترین مواد ضددردی موجود در عصاره نیز فلاونوئیدهای آن هستند. از طرف دیگر تحقیقات اخیر نشان می‌دهند که عصاره برخی از گونه‌های این گیاه دارای خاصیت مهار تولید نیتریک‌اکساید است [۱۰] و نیتریک‌اکساید از طریق افزایش سطح cAMP و cGMP و فعال‌سازی پروتئین کینازهای وابسته در سطح مغز و نخاع در افزایش حساسیت مرکزی به درد به ویژه دردهای التهابی دخالت دارد [۲۲، ۲۳]. بنابراین مهار سیستم نیتریک‌اکساید هم در بروز بی‌دردی عصاره در فاز دوم موثر است.

نتیجه‌گیری

تزریق محیطی عصاره اتانولی علف خنازیر اثر ضددردی مرکزی و محیطی قابل ملاحظه‌ای دارد و عصاره این گیاه به صورت بالقوه می‌تواند در کنترل بیماری‌های التهابی و دردناک به کار رود.

تشکر و قدردانی: از زحمات و همکاری معاونت پژوهشی و مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی علوم پایه دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین صمیمانه تشکر می‌نمایم.

منابع

1- Ramsin B, Andrea MT, Sukdeb D, Ricardo B, Rajive A, Nalini S, et al. Opioid complications and side effects. *Pain Physician*. 2008;11(2):105-20.

2- Beehrle DM, Evans D. A review of NSAID complications: Gastrointestinal and more. *Prim Care Pract*. 1999;3(3):305-15.

3- Blumenthal M. Asian ginseng: Potential therapeutic uses. *Adv Nurse Pract*. 2001;9(2):26-8.

4- Sofiabadi M, Esmaeili MH, Haghdoost H, Ghaibi N. The effect of *Elaeagnus angustifolia* L. leaves extract on pain of male rats. *Yafte J*. 2008;10(1):23-9. [Persian]

5- Olmstead RG, DePamphilis CW, Wolfe AD. Whatever happened to the *Scrophulariaceae*? *Fremontia*. 2003;30(2):13-22.

6- Desantos GJ, Piaz Lanza AM, Matellan LF. Biologically active substances from the genus *scrophularia*. *Pharm Biol*. 2002;40(1):45-59.

7- Hartwell JL. Plants used against cancer-an extension of the work of Jonathan. *J Ethnopharmacol*. 2000;73(3):347-77.