



研究报告

Research Report

Microtrichia perotitii Dc (菊科) 叶子水提物在电炉法中对小鼠的植物化学筛查和镇痛活性评估

Abdullahi M. N.¹, Ilyas N.², Ibrahim H.²

1. Department of Science Laboratory Technology, College of Engineering, Science and Technology, Hussaini Adamu Federal Polytechnic, Kazaure, Jigawa State, Nigeria

2. Department of Pharmacognosy and Drug Development, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ahmadu Bello University, Zaria, Kaduna State, Nigeria

✉ 通讯作者: amnuhu2006@yahoo.com; ✉ 作者

植物药与药理学杂志, 2013 年, 第 2 卷, 第 9 篇 doi: [10.5376/jppm.cn.2013.02.0009](https://doi.org/10.5376/jppm.cn.2013.02.0009)

收稿日期: 2012 年 12 月 26 日

接受日期: 2012 年 12 月 26 日

发表日期: 2012 年 12 月 27 日

本文首次发表在《Medicinal Plant Research》(2013, Vol.3, No.5)上。现依据版权所有人授权的许可协议, 采用 Creative Commons Attribution License 对其进行授权, 再次发表与传播。只要对原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。建议最佳引用格式:

引用格式(中文):

Abdullahi 等, 2013, *Microtrichia Perotitii* Dc (菊科) 叶子水提物在电炉法中对小鼠的植物化学筛查和镇痛活性评估, 植物药与药理学杂志(online), Vol.2 No.9 pp.1-7 (doi: [10.5376/jppm.cn.2013.02.0009](https://doi.org/10.5376/jppm.cn.2013.02.0009))

引用格式(英文):

Abdullahi 等, 2013, Evaluation of phytochemical screening and analgesic activity of aqueous extract of the leaves of *Microtrichia perotitii* Dc (Asteraceae) in Mice Using Hotplate Method, Zhiwuyao Yu Yaolixue Zazhi (online), Vol.2 No.9 pp.1-7 (doi: [10.5376/jppm.cn.2013.02.0009](https://doi.org/10.5376/jppm.cn.2013.02.0009))

摘要 众所周知, 目前治疗疼痛、发烧和炎症的可用药物有很多副作用, 这就需要进行对人体无害的新药研制。迄今为止可能对人类无害。因此, 我们使用电炉法处理小鼠, 来测试菊科的 *Microtrichia perotitii* 的植物化学物质含量和止痛活性。初步植物化学研究结果显示, 单宁、类黄酮、皂苷、生物碱、碳水化合物和酚醛树脂在整个植物中的现状。镇痛的研究表明, *Microtrichia perotitii* 叶的水提物对比标准药物硫酸吗啡(10 mgkg⁻¹)有显著活性(P<0.05; P<0.001)。结果显示有剂量依赖活性。研究称, 许多菊科药用植物中的单宁、类黄酮、生物碱和皂苷有镇痛和抗炎作用。这些结果解释了, 为何当地使用植物来止疼或治疗相关疾病很普遍。

关键词 *Microtrichia perotitii*, 菊科, 止痛活性, 电炉法, 植物化学研究, 硫酸吗啡

Evaluation of Phytochemical Screening and Analgesic Activity of Aqueous Extract of The Leaves of *Microtrichia perotitii* Dc (Asteraceae) in Mice Using Hotplate Method

Abdullahi M. N.¹, Ilyas N.², Ibrahim H.²

1. Department of Science Laboratory Technology, College of Engineering, Science and Technology, Hussaini Adamu Federal Polytechnic, Kazaure, Jigawa State, Nigeria

2. Department of Pharmacognosy and Drug Development, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ahmadu Bello University, Zaria, Kaduna State, Nigeria

✉ Corresponding author, amnuhu2006@yahoo.com; ✉ Authors

Abstract Currently, available drugs for the management of pains, fever and inflammation conditions presents with it many known adverse effects, hence the search for new drugs from plants which hitherto may be harmless to humans. To this end, *Microtrichia perotitii* (Asteraceae) was screened for its phyto contents and analgesic properties using hotplate method with mice. The result of the preliminary Phytochemical studies revealed the presence of tannins, flavonoids, saponins, alkaloids, carbohydrates and phenolics in the plant as a whole. The analgesic study showed that the aqueous extract of the leaves have significant activity (P<0.05; P<0.001) as compared to morphine sulphate (10mg·kg⁻¹) used as a standard drug. The result indicated dose-independed activity. Tannins, flavonoids, alkaloids and saponins have been reported to be responsible for the analgesic and anti-inflammatory activities in many medicinal plants of this family. These results may explain the use of the plant for the management of pains and its related ailments in the locality where it is very common.

Keywords *Microtrichia perotitii*; Asteraceae; Analgesic properties; Hotplate method; Phytochemical studies; Morphine sulphate

疼痛是一种不愉快的感觉和情绪体验。疼痛与实际或潜在的国际疼痛研究协会(International Association for the study of Pain, IASP)列出的组织损伤相关, 我们也可以这样描述这种伤害(Michael et al., 2003; Merskey, 1986)。因此, 疼痛类似于视觉和听觉, 是一种不能客观评估的表征 (Angel, 2009)。疼痛引起不适, 总是需要得到缓解。大多用于止疼的药物用于必要的急性术后止疼或非必要用途, 这些药物具有潜在的毒性作用, 如引



起胃肠道出血(Ambarkar et al., 2011)。另一方面, 多个世纪以来, 植物来源的药物用于治疗疾病, 并没有损伤宿主的报道。基于此, 本研究采用灌木植物 *Microtrichia perotitii* DC (Asteraceae)来进行(Watson and Dallwitz, 1992)。M. perotitii 在西非广泛分布。在尼日利亚北部 Zaria 省, 一直延伸到 Birnin Gwari, 有栽培(in Kaduna State)。西非其他常见分布地区为 Senegal、Quassadous、Mali、Guinea 港、Sieraleone、Ivory coast、Ghana 和 Dahomey (Hutchinson and Dalziel, 1963)。

在药品贸易实践中, 咀嚼植物叶子来治疗牙疼以及相关疾病。同样, 冷的叶子调制品被作为漱口水用来防止牙齿腐烂。另外, 新鲜叶子榨汁, 用以治疗孩子的皮疹。一些社区, 使用全树来驱除恶灵。

此外, 许多社区这种植物几乎灭绝, 并没有什么研究报告阐述其应用潜力, 尤其是它所包含的活性成分。

1 结果与分析

1.1 植物化学筛选

以下成分使用 *Microtrichia perotitii* 叶子的天然水提物进行鉴定(表 1)。

表 1 *Microtrichia perotitii* 叶子粗提物种已鉴定植物化学成分

Table 1 Some identified Phytochemical constituents from the crude aqueous extract of the leaves of *Microtrichia perotitii*

成分 Constituents	测验 Tests	水 Aqueous
单宁 Tannins	Lead acetate Ammonia Solution	+
类黄酮 Flavonoids	Ferric Chloride Shinoda test	+
	Ferric chloride Lead acetate	+
生物碱 Alkaloids	Sodium hydroxide Dragendoff's reagent	+
	Wagner reagent Mayer reagent	+
	Molich test Fehlings' solution	+
碳水化合物(还原糖) Carbohydrate (reducing sugars)	Keller-kilian (cardenoides) Salkowskts test	+
	Liberman-burchard test Frothing test	+
皂苷 Saponins	1% HCl	-
鞣酐类 Anthraquinones	Borntrager's test	-
酚醛类 Phenolics	Ferric chloride	+
树脂 Resins	10% KMnO ₄	-

注: +代表检测到; -代表缺少

Note: + = detected; - = absent

1.2 统计学分析

对结果进行 Scheffe' s 测试后, 用 ANOVA 进行显著性统计分析(表 2; 图 1)。p<0.05 and p<0.001 表示显著。使用的计算机统计软件为 SPSS (ver 16)。



表 2 热板试验中 *Microtrichia perotitii* 叶片粗提物的镇痛活性

Table 2 Analgesic activity of crude aqueous extract of the leaf *Microtrichia perotitii* using Hotplate method

Groups	Dose (mg/kg)	Time interval (mins)	Aqueous crude Extract Mean latency \pm SD	Inhibition (%)
生理盐水 (负控制) Normal saline (-ve control)	10	0	1.44 \pm 0.16	-
		30	1.35 \pm 0.21	-
		60	1.51 \pm 0.19	-
		90	1.23 \pm 0.52	-
1	25	0	1.67 \pm 0.21	1.10
		30	1.50 \pm 0.22	1.09
		60	1.97 \pm 0.23*	3.41
		90	1.68 \pm 0.19*	3.37
2	50	0	1.35 \pm 0.21	0.66
		30	1.11 \pm 0.23**	1.76
		60	1.27 \pm 0.18**	1.78
		90	1.35 \pm 0.11	0.87
3	100	0	1.50 \pm 0.16	0.44
		30	1.00 \pm 0.23*	3.24
		60	1.09 \pm 0.15*	3.11
		90	1.16 \pm 0.17	0.51
硫酸吗啡 (正控制) Morphine sulphate (+ve control)	4	0	1.33 \pm 0.15	0.81
		30	1.44 \pm 0.06**	1.54
		60	1.29 \pm 0.09**	1.63
		90	1.35 \pm 0.12	0.87

注: *显著性水平 $p < 0.05$; **显著性水平 $p < 0.001$

Note: *significant at $p < 0.05$, ** significant at $p < 0.001$

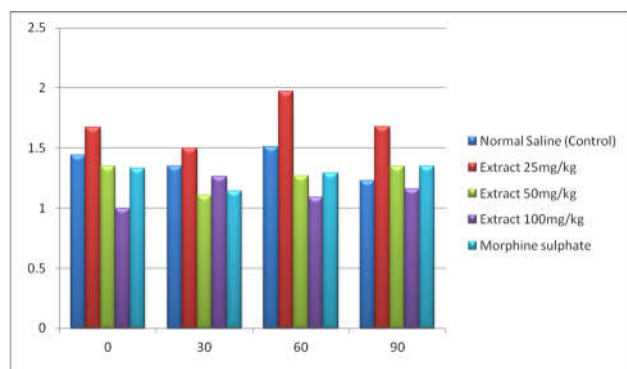


图 1 电炉法处理下 *M. perotitii* 水粗提物对小鼠的作用

Figure 1 Effect of aqueous crude extract of *M. perotitii* in mice when exposed to a Hot-plate

2 讨论

Microtrichia perotitii 叶子水提物的初步植物化学筛选得出结果为, 碳水化合物、心脏苷、生物碱、黄酮、皂苷、丹宁酸和酚醛树脂阳性。这些物质曾在其他植物植物中有过报道, 是植物具备镇痛活性的原因 (Hemmalini et al., 2011; Jain et al., 2011)。据报道, 一些菊科家植物中含有类似的化合物, 也表现出镇痛活性 (Saritha et al., 2012)。类黄酮参与急性炎症和疼痛知觉的后期阶段, 是目标前列腺素。植物水提物中的类黄酮可能参与其镇痛功能 (Rajnarayana et al., 2001; Rao et al., 1998)。也有报道称单宁具有镇痛活性 (Vanu et al., 2006)。此外, 众所周知, 生物碱具有抑制疼痛感知的作用 (Uche et al., 2008; Amritpal et al., 2008)。

一种物质的镇痛效应或者通过中枢神经系统, 或者通过周围神经系统, 也有一些罕见的例子中是两条途径都有的。因此, 使用一个方法来区分这两条途径是有必要的 (Tjolsen et al., 1992; Raval and Ravishankar, 2010)。止痛药物的动物实验通常测量痛觉, 包括测试动物对疼痛刺激的反应 (Rang et al., 2003)。然而, 在这项研究中, 电炉法用来检测中枢神经系统止痛评估中提取物的效果。在这个测试中, 提取物某种程度上增强了老鼠在电炉上的反应, 加大了平均反应时间之间的差异。处理组与对照组的时间差异显示出剂量依赖活性。热板反应是更复杂的脊椎控制行为 (Mustaffa et al., 2010; Chapman et al., 1985)。



表 2 和图 1 显示了 *Microtrichia perotitii* 的止痛活性。结果表明, 所有的老鼠用药前, 痛苦反应时间(pain reaction time, PRT)没有显著差异。然而, 30 分钟后, 对比生理盐水对照组, 使用提取物和参考药物(硫酸吗啡)组剂量依赖行为的 PRT 显著提高($p < 0.05$ 和 $p < 0.001$)。相较于 $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 处理, 25 和 $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量的 PRT 要远远高于使用标准药物治疗。这个实验中, 25 和 $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的提取物总是比标准药物更有效(Omeh and Ezeja, 2010; Pavan et al., 2009)。增加疼痛的反应时间(潜伏期)反映了药物和提取物导致的镇痛级别。增加动物的抗压力能力表明了更高的中心其参与可能性(Omeh and Ezeja, 2010)。因此, 整体结果表明, 热板试验中 *Microtrichia perotitii* 叶子水提物具有止痛活性, 可能会在一定程度上由类鸦片活性肽受体介导, 因此可以减轻疼痛, 也同样证明了植物对牙疼的止疼作用(Barau et al., 2009)。

2 材料与方法

3.1 实验动物

试验中使用的性别不同、体重不同的成人瑞士白化小鼠和 Wister 大鼠由 Zaria 地区 Ahmadu Bello 大学临床制药与药理学部动物科室提供。他们保存在通风良好的条件下, 以 Kaduna 标准土豆泥喂食。动物可以随意取食得食物和水。动物处理遵守 National Regulations for Animal Research, 与 Ahmadu Bello 大学动物研究和伦理指导相一致。

3.2 *Microtrichia perotitii* DC 的收集与识别件

新鲜的 *Microtrichia perotitii* DC 香草收集于 2005 年 4 月该植物的成熟和开花期, 来源于 Kaduna 州 Kaduna 市郊区 Rigasa 村的沼泽地区(图 2)。对该植物进行科学的植物学和分类学特征鉴定(Daniel, 1877; Andrews, 1954; Hutchinson and Dalziel, 1963; Watson and Dallwitz, 1992)。准备真实样品, 放置于 Zaria 地区 Ahmadu Bello 大学生物科学院的干燥样本集中, 批号 998, 标本官 mal. Musa M。



图 2 *Microtrichia perotitii* DC 样品摄影

Figure 2 Photographic specimen of *Microtrichia perotitii* DC

3.3 *M. perotitii* DC 提取物

每份 *M. perotitii* 叶子粉末 300 g, 首先使用石油醚($60\sim 80^\circ\text{C}$)提取, 不可溶物质用蒸馏水在索氏提取器中提取 20 小时。经过提取, 溶质与溶剂逐步蒸馏分离, 之后, 使用沸水浴蒸发干燥。冷却提取物, 将其放置在一个干净的容器中, 干燥器密封保存以备使用(Brain and Turner, 1975; Ciulei, 1994; Wang and Weller, 2006)。

3.4 植物化学筛选

使用标准方法筛查 *Microtrichia perotitii* 叶子天然水提物的植物化学成分(Agarwal, 2000)。

3.4.1 单宁测试

3.4.1.1 醋酸铅测试

测试管中每 2 毫升水提物, 加 5 滴醋酸铅溶液。摇动试管, 看到颜色沉淀则表明有单宁(Kokate et al., 2002)。

3.4.1.2 氨溶液测试

水提液 0.2 g 转移到试管中。添加 3 毫升水, 摇动、过滤。向滤液中加入 3 毫升 25%的氨溶液, 试管暴露在空气中。缓慢形成绿色, 表示有绿原酸(Evans, 2002; Kokate, 2002)。



3.4.1.3 氯化铁测试

少量的提取液与蒸馏水混合, 用沸水浴加热。对每份混合物进行过滤, 滤液中添加几滴浓硫酸和 5%氯化铁溶液。有深蓝色、绿色或蓝绿色沉淀表明含有单宁(Evans, 2002)。

3.4.2 类黄酮测试

3.4.2.1 Shinoda 测试

向几毫升酒精萃取物中添加几块镁钢屑, 紧随其后添加两滴浓盐酸。有气体冒出, 并且深棕色溶液逐渐变成深红色或外观粉红色, 表明含有类黄酮(Evans, 2002)。

3.4.2.2 氯化铁测试

每份抽提液中添加约 5 毫升蒸馏水, 热水浴 2 分钟。混合液进行过滤, 2 毫升滤液中添加几滴 10%的氯化铁酒精溶液。有泡沫生成, 溶液由深棕色变成绿色、蓝色至紫色, 表明含有类黄酮(Evans, 2002)。

3.4.2.3 醋酸铅测试

0.2 克粗提物溶解于水, 之后过滤。在试管中装 5 毫升滤液, 滴入几滴 10%醋酸铅。形成浅黄色沉淀, 表明含有类黄酮(Brain and Turner, 1975; Harborire, 1998)。

3.4.2.4 氢氧化钠测试

试管中加入 2 毫升提取液, 添加 10%的氢氧化钠溶液。发生黄色反应, 表明含有类黄酮(Evans, 2002)。

3.4.3 生物碱测试

3 毫升提取液与 5 毫升的 1%盐酸混合, 搅拌, 热水浴, 经过滤, 分成 3 份, 每份 1 毫升。第一份添加几滴 Dragendoff 试剂, 产生橙红色沉淀, 表明含有生物碱; 第二份添加几滴 Wagner 试剂, 出现红棕色, 表示含有生物碱; 第三份添加了几滴 Mayer 试剂, 形成浅黄色沉淀, 表明含有生物碱(Evans, 2002)。

3.4.4 碳水化合物测试

3.4.4.1 Molisch 测试

0.2 克粗提物溶解在 10 毫升蒸馏水中, 滴入几滴 Molisch's 试剂。之后, 沿试管壁缓慢加入 1 毫升的浓硫酸, 在水层下形成酸层。静置 2 分钟, 然后用 5 毫升的水稀释。两层的接口处形成红色至暗紫罗兰色, 表明含有一般的碳水化合物(Evans, 2002)。

3.4.4.2 Fehling 测试 (还原糖)

植物提取物加入 5 毫升稀盐酸重, 煮沸水解, 最终的溶液使用氢氧化钠溶液中和。加入几滴费林 A 和 B 溶液沸水浴加热 2 分钟。红棕色氧化亚铜沉淀形成, 说明含有碳水化合物 (Evans, 2002)。

3.4.5 强心甙测试

3.4.5.1 强心甙的 Keller-Kiliani 测试

试管中装入 2 毫升 3.5%氯化铁的冰醋酸溶液, 溶解 0.5 克粗提物, 添加 2 毫升浓硫酸。在接口处产生红褐色环表示有洋地黄苷(Evans, 2002)。

3.4.5.2 Salkowski 测试

试管中加入 2 毫升氯仿, 溶解 0.2 克粗提物, 沿试管壁小心加入浓硫酸形成较低的一层。在接口处形成红褐色表明含有甙核(Sofowora, 1993)。

3.4.5.3 Liberman-Burchard 测试

在试管中装入 2 毫升氯仿, 溶解 0.2 克粗提物, 添加几滴醋酐, 煮沸, 冷却。使用玻璃棒紧贴试管壁, 添加浓硫酸。两层混合处形成棕色环, 上层变绿, 表明有类固醇; 形成深红色表明含三萜系化合物(Harbone, 1973; Culei, 1994)。

3.4.6 皂苷的发泡测试

向装有 10 毫升蒸馏水的试管中加入 0.5 克粗粉, 摇匀, 水浴加热 5 分钟, 摇晃起沫。有持久的泡沫说明有皂苷。向泡沫上滴 3 滴橄榄油, 观察到乳液的形成, 证实了皂苷的存在(Kapoor et al., 1969; Harbone, 1973; Sofowora, 1993)。



3.4.7 鞣红单宁测试

经过滤后, 10 毫升样本水提取物与 1%盐酸在试管中进行沸腾反应。显示红色或产生红色沉淀, 表明含有鞣红单宁(Sofowora, 1993; Evans, 2002)。

3.4.8 蒽醌类测试

3.4.8.1 Borntrager 测试

每份材料粉末 2 g, 使用 4 毫升 10%盐酸反应 3 分钟。保有余热的混合物进行过滤, 冷却滤液。滤液冷却后, 与同体积的氯仿进行摇匀混合, 提取蒽醌。将氯仿层转移到一个干净的试管, 用同体积 10%的 NH₄OH 处理。摇匀混合物, 记下上层颜色。形成无色层说明含有蒽醌或其衍生物(Evans, 2002)。

3.4.8.2 氢氧化铵测试

0.5 克粗粉与 10 毫升苯混合, 过滤, 滤液中加入 2 毫升 10% NH₄OH, 摇匀混合物。含有氨的下层出现粉红色、红色或紫色表示存在蒽醌(Evans, 2002)。

3.4.8.3 酚类化合物的三氯化铁测试

每 2 毫升的水提液母液中添加 3 毫升的水, 添加 2 滴 1%三氯化铁酒精溶液。出现红色、蓝色、墨绿色或紫色, 表明含有酚类化合物(Evans, 2002)。

3.4.8.4 树脂测试

向 0.5 g 提取物加入 5 毫升 10% KMnO₄ 溶液, 将试管置于 Bunsen 灯火焰上缓慢加热。感觉有苯甲醛的味道, 表明发生了苯甲酸的氧化, 证明含有树脂(Brain and Turner, 1975; Evans, 2002)。

3.4.9 电炉法测试

基于 Eddy 和 Leimback (1953)的方法进行此测试。随机选择实验动物的性别, 分成五个组, 每组五只老鼠, 分别设置一个作为对照(阳性控制)和试验样本组。组 1(对照组)使用生理盐水(0.9% w/v NaCl 溶液), 组 2、3 和 4 每公斤体重分别使用 25、50 和 100 毫克提取物, 组 5 每公斤体重使用 10 毫克硫酸吗啡(阳性控制)。将动物放置在 55±0.50°C 热板上。为避免损坏爪子, 每 15 秒停顿一次。记录动物舔其前后爪子或跳之前的反应时间, 口服样品后 30、60、90 分钟。最大可能效果(MPE)计算公式为: $\%MPE = (\text{test latency} - \text{control latency}) / (\text{cut off time} - \text{control latency}) \times 100$ (Kulkarni, 1999; Toma et al., 2003; Heidari et al., 2007)。

致谢

感谢 Zaria 地区 Ahmadu Bello 大学医药科学学院生药学和药物开发部门的所有教学和非教学人员。

参考文献

- Agarwal, S. S. (2007). Herbal Drug Technology. Universities Press Pur Limited Hyderabad, Pg 7-11.
- Ambarkar, M.V; Tara, S; Meena, K.K; Bainy, K.L; Smita, S(2011). Evaluation of Anti-inflammatory and Analgesic activities of Alcoholic Extract of *Kaempferia galanga* in Rats. Ind J. Physiopharmacol, 55(1):13-24.
- Amritpal, S.S; Samir, M; Ravi, S(2008). Anti-inflammatory and Analgesic Agents from Indian Medicinal Plants. Int J. integr. Bio. Rev 3(1):51-72.
- Andrews, F.W. (1945). The Flowering Plants of the Sudan. Vol 3 Compositae-Graminae. Pub. for the Sudan Govt. by T. Bande and co Ltd. Arbroath. Scotland. Pg 1-63
- Angela -Morrow, R.N., (2009). What is Pain? About. Com. Guide Newsletters Retrieved 18th July, 2009 from <http://dying.About.com/od/pain control/a/ what is pain?>
- Barau, C.C; Taudar, A; Begim, S. A; Sarma, D.K; Pathak, D.C; Borah, P(2009). Antinociceptive activity of Methanolic Extract of Leaves of *Alternanthera bacliana* Kuntz in Animal Models of Nociception. Pharmacologyonline, 3:49-55
- Brain, K.R. and Turner, T.D. (1975). The Practical Evaluation of Phytopharmaceuticals. Wright-scientechnica Bristol. Pg 4-9, 60, 76-79, 81-85, 153.
- Chapman, C.R; Casey, K.L; Dubna, R; Foby, K.M; Gacely, R.H; Reading, A.E(1985). Pain Measurement; an overview, 22:1-31.
- Ciulei, I. (1994). Methodology for the Analysis of vegetable drugs. Chemical industries Branch. Division of Industrial operations, UNID O. Romania. Pg 21-97.
- Daniel, O., (1877). Flora of Tropical Africa. Vol III Umbelliferae To Ebenaceae. Published under the authority of the first commissioner of Her Majesty's works. By L.Reeve and Co., 5 Henrietta Street, Covent. Garden London. Pg 302-303
- Eddy, N.B., Leimback, D. (1953). Synthetic analgesic II. Diethylenyl butenyl and dithienyl butylamines. *J.Pharmacol.Exp.Therapeutics*, 107:385-393.
- Evans, W.C. (2002). Trease and Evans. Pharmacognosy, 15th edition W.B. Saunders, Toronto. Harcourt Pub Ltd. Pg 1-40, 516-525.
- Harborne, J.B. (1998). Phytochemical Methods. A guide to Modern Techniques of Plant Analysis: Chapman and Hall. London. Pg 49-185, 123, 130-152, 182-190, 279, 49-185.
- Heidari, M.R.; Mebrabani, M.; Pardakhty, A.; Khazaeli, P.; Zahedi, M.J.; Yakhchali, M.; Vahedian, M. (2007). The Analgesic effect of *Tribulus terrestris* extract and comparison in animal experiments. *ANNALS. N Y. Acad. Sci.*, 1095: 418-427.
- Hemamalini, K.; Srikanth, A.; Sunny, G and Pranethkumar, H(2011). Phytochemical Screening and Analgesic Activity of Methanolic Extract of *Ximenia americana*. *Curr. Pharma Res*. 2:153-156.



- Hutchinson, J. and Dalzie, J.M. (1963). Flora of West Tropical Africa, 2nd edn Vol 12. Crown Agent for overseas Government and Administration Millbank, London SW 1 Pg 325-397
- Kokate, C.K., Purohit, A.P., Gokhale, S.B. (2002). Pharmacognosy 8th edn Nirali Prakashan. India. P154, 167-170, 255-256,272.
- Jain,S.K;Shashi, A; Shallus,S(2011). Analgesic Activity of Ethanolic Extract of *Pongamia pinnate* Linn Leaves. Der pharmacia Lettre,3(5):179-182.
- Kulkarni,S.K.(1999).Handbook of Experimental Pharmacology. Vallabh. Prakashan.Delhi. India .Pg116-118
- Merskey, H.M. (1986). Pain terms. *Pain,Suppl. 3(5):.215-221*
- Michael, Y.D; Dubois, C.G; Allen, H.L.(2003). Chronic Pain Management in: Healy TEJ, Knight. PR eds. Wylie and Church-Davidson's: A Practice of Anaesthesia. 7th ed. London. Hodder Arnold: 1235-1239.
- Mustafa, F;Indurkar, J; Ismail.S; Mordi,M.N; Ramanathan,S and Mansur, S.M(2010). Analgesic activity, Toxicity study and Phytochemical Screening of standardized *Cinnomomum mers* leaves Methanolic Extract. Pharmacog. Rev,2(2): 76-81.
- Omeh, Y.S and Ezeja, M.I(2010). Analgesic Activity of the Methanolic Leaf Extract of *Jatropha curcas*(Linn). Afr. J. Biomed Res., 13:149-152.
- Pavan, K.R.K;Bhagavan,R.M; sreedeve,P; Pranali,P; Veena,R.I; Veena, G(2009). Phytochemical Screening, Antiheleptic & Analgesic Activity of Leaf Extract of *Pasiflora foitida*. Pharmacologyonline,3: 576-580.
- Rajanarayana,K; Reddy, M.S;Chaluvadi,M.R; Krishna,D.R(2001).Biflavonoids: classification,pharmacology, biomedical effects and therapeutic potential. Ind. J.Pharmacol,33:2-16.
- Rao,M.R;Rao,Y.M; Rao,A.V;Prabhkar,M.C; Rao,C.S;Muraidhar.N(1998). Antinociceptive Activity and Antiinflammatory Activity of a Flavonoid Isolated from *Caralluma attenuate*. J. Ethnopharmacol,62:63-66.
- Raval,N.D; Ravinshankar,B(2010). Analgesic Effects of *Lepidium sativum* Linn(Chandrashina) in Experimental Animals. Ayu.33:371-382.
- Saritha,K; Kiranmai,M; Dorababu, N; Mohammed, I(2012). Pharmacognostical ,Phytochemical and Analgesic activity of *Eclipta prostrate* L(Asteraceae). J. Glob. Trend in Pharm. Sc,3(3):740-746.
- Sofowora, A. (1981). Inaugural lecture series No 48 In: Sofowora, A. (ed). The State of Medicinal Plants Research in Nigeria. Workshop Proceedings, Ife, 1986. Ibadan University Press Nigeria Pg65-66.
- Tjolsen, A; Berje,O.G; Hunkskaar,S; Rosland, J.H; Hole,K(1992). The formalin test: an evaluation of the method. Pain 15:5-17
- Toma, W.; Graciosa, J.S.; Hiruma-Lima, C.A.; Andrade, F.D.P.; Vilegas, W.; Souza-Brita, A.R.M., (2003). Evaluation of the Analgesic and Antidematogenic activities of *Quassia amara* bark extract. *J.Ethnopharmacol.*, 95:19-23.
- Uche,F.I; Aprioku,S(2008). The Phytochemical constituents, Analgesic and Antiinflammatory Effects of Methanolic Extract of *Jatropha curcas* Leaves in Mice and Wister albino Rats. J. Appl Sc. And Env mgt,12(4):99-102.
- Vann, M.R; Palanivelu, S; Panchanathan, S(2006). Immunomodulatory and Antiinflammatory Effects of *Semecarpus anacardium* Linn. Nut Milk Extract in Experimental Inflammatory conditions. Biology and Pharmcut. Bull,29:693-700.
- Wang, L. and Weiler, C.L. (2006). Recent Advances in extraction of Nutraceuticals from plants. Trend in food science and Technology.*Elsevier17: 300-312*.
- Watson, L. and Dallwitz, M. (1992). The families of flowering Plants: Description, Illustration, Identification and Information. Retrieved 18th August, 2008 from <http://www.biodiversity.uno.edu/delta/>