

Antinociceptive and Anti-inflammatory Effects of Hydroalcoholic Extract of Female Cones of Juniper (*Juniperus excelsa*) and *Plantago ovata* in Male Wistar Rats

Mohadeseh Shekari¹ , Sare Gorji¹ , Maryam Rahimi Tesiye¹ , Farhad Valizadegan^{1*} , Shahrbanu Oryan² 

¹Department of Biology,
School of Basic Sciences,
University of Mazandaran,
Babolsar, Iran.

²Department of Biology,
School of Life Sciences,
University of Kharazmi,
Tehran, Iran.

*Corresponding Author:
Farhad Valizadegan;
Department of Biology,
School of Basic Sciences,
University of Mazandaran,
Babolsar, Iran.

Email:
f.valizadegan@umz.ac.ir

Received: 2 Dec, 2018
Accepted: 19 Jun, 2019

Abstract

Background and Objectives: Today, given the numerous complications caused by use of chemical drugs, attention has been paid to the use of herbal medicines. The purpose of this study was to investigate the antinociceptive and anti-inflammatory effects of hydroalcoholic extract of female cones of Juniper and *Plantago ovata* in male Wistar rats.

Methods: In this study, 144 male Wistar rats were used. To investigate the analgesic and anti-inflammatory effects of each extract using formalin and xylene test, the animals were divided into 6 groups. The groups received hydroalcoholic extract of female cones of Juniper (at doses of 50, 100, 150, and 200mg/kg) and hydroalcoholic extract of *Plantago ovata* (at doses 10, 50, 100, and 150mg/kg) orally by gavage for 28 days. The control groups (normal saline recipients) and positive control (receiving morphine at dose of 10mg/kg in the pain group or dexamethasone at dose of 15mg/kg in the inflammatory group), were considered for each extract. One-way ANOVA and Tukey's post hoc test were used to determine the difference between the groups.

Results: In this study, the hydroalcoholic extract of the female cone of Juniper and *Plantago ovata* significantly decreased the pain in two acute ($p \leq 0.05$) and chronic ($p \geq 0.05$) phases. Also, the results of the test of xylene showed the reducing effect of both extracts on inflammation ($p \leq 0.05$).

Conclusion: According to the results of this study, the hydroalcoholic extract of the female cone of Juniper and *Plantago ovata* has antinociceptive and anti-inflammatory properties.

Keywords: Juniperus; Plantago; Chronic Pain; Acute Pain; Formaldehyde; Xylenes.

DOI: 10.29252/qums.13.7.62

اثرات ضد درد و ضدالتهابی عصاره هیدروالکلی مخروط ماده گیاه ارس و دانه گیاه اسفرزه در موش نر نژاد ویستار

محدثه شکاری^۱، ساره گرجی^۱، مریم رحیمی تسیه^۱، فرهاد ولی زادگان^{۱*}، شهربانو عریان^۲

چکیده

زمینه و هدف: امروزه، با توجه به عوارض بسیار زیاد ناشی از مصرف داروهای شیمیایی، استفاده از داروهای گیاهی رو به افزایش است. پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر ضد درد و ضدالتهابی عصاره هیدروالکلی مخروط ماده گیاه ارس و دانه اسفرزه انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، از ۱۴۴ سر موش نر نژاد ویستار استفاده شد. به منظور بررسی اثرات ضد درد و ضدالتهابی هر عصاره با استفاده از تست فرمالین یا گزین، حیوانات به گروه‌های ۶ تایی تقسیم شدند. گروه‌ها عصاره هیدروالکلی مخروط ماده ارس (با دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم برکیلوگرم) و عصاره هیدروالکلی دانه اسفرزه (با دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم برکیلوگرم) را به صورت گاوژ خوراکی به مدت ۲۸ روز دریافت کردند. گروه‌های شاهد (دریافت کننده نرمال سالین) و کنترل مثبت (دریافت کننده مورفین با دوز ۱۰ میلی گرم برکیلوگرم) در گروه درد و یا دگزامتازون (با دوز ۱۵ میلی گرم برکیلوگرم) در گروه التهاب برای هر عصاره در نظر گرفته شدند. داده‌ها با استفاده از آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه و تعقیبی توکی (جهت تعیین تفاوت میان گروه‌ها) تحلیل شدند.

یافته‌ها: در این مطالعه، عصاره هیدروالکلی مخروط ماده گیاه ارس و دانه گیاه اسفرزه، باعث کاهش معنی داری درد در دو فاز حاد ($p \leq 0/05$) و مزمن ($p \leq 0/05$) گردید. نتایج حاصل از تست گزین، اثرات کاهشی را بر التهاب نشان داد ($p \leq 0/05$).

نتیجه گیری: براساس نتایج این مطالعه، عصاره هیدروالکلی مخروط ماده ارس و دانه گیاه اسفرزه، خواص ضد درد و ضدالتهابی دارند.

کلیدواژه‌ها: ارس؛ اسفرزه؛ درد مزمن؛ درد حاد؛ فرمالدئید؛ گزین.

^۱گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

^۲گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

فرهاد ولی زادگان؛ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:
f.valizadegan@umz.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۷/۹/۱۱

تاریخ پذیرش: ۹۸/۳/۲۹

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Shekari M, Gorji S, Rahimi Tesiye M, Valizadegan F, Oryan Sh. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of hydroalcoholic extract of female cones of Juniper (*Juniperus excelsa*) and plantago ovata in male wistar rats. Qom Univ Med Sci J 2019;13(7):62-71. [Full Text in Persian]

گیاه اسفرزه (*Plantago Ovata*)، از گیاهان دارویی جنس *Plantago* و متعلق به خانواده (بارهنگ) *Plantaginaceae* است. اسفرزه گیاهی بدون ساقه یا دارای ساقه بسیار کوتاه بوده (۱۴)، که ارتفاع آن ۷۰-۳۰ سانتی متر است و دارای برگ‌های باریک و دراز، سنبله‌های استوانه‌ای یا تقریباً مدور و یا تخم‌مرغی شکل می‌باشد. دانه‌ها به صورت استوانه با حاشیه‌ای باریک و غشایی هستند (۱۵). همچنین این گیاه دارای ریشه راست به طول ۲۰-۳۰ سانتی متر است که در بیشتر موارد روی آن ریشه‌های جانبی فراوانی دیده می‌شود (۱۶). گل‌ها در چهار ردیف مارپیچی در خوشه‌های استوانه‌ای یا تخم‌مرغی جمع هستند (۱۴). از مهم‌ترین ترکیبات موجود در اسفرزه می‌توان به انواع اسیدها (بنزوئیک، کافئیک، کلروژنیک، P-کوماریک، فوماریک، سالیسیلیک، ارسولیک، وانیلیک، آسکوربیک اسید) آلکالوئیدها و آمینواسیدها (لیزین، آلانین، هیستیدین و آسپارژین) اشاره کرد (۱۵). در طب سنتی از این گیاه برای رفع نفخ مزمن، اسهال خونی و التهاب مثانه نیز استفاده می‌شود. دانه و پوسته اسفرزه دارای خواص ملین، تسکین‌دهنده و ضدیبوست است و در درمان التهاب و اختلالات صفراوی اندام‌های گوارشی مفید می‌باشد (۱۶). به علت اثرات مخرب استفاده از داروهای شیمیایی به ویژه داروهای ضد درد و ضدالتهاب، تحقیقات وسیعی در مورد شناسایی، استخراج و تهیه داروهای گیاهی و عرضه آن‌ها به بیماران انجام شده است. همچنین در تحقیقات جدید، گیاه‌درمانی به عنوان درمانی با هزینه کم و حداقل عوارض جانبی معرفی شده است. در پژوهش حاضر اثرات ضد دردی و ضدالتهابی عصاره هیدروالکلی مخروط ماده گیاه ارس و دانه اسفرزه در تست‌های فرمالین و گزیلن بررسی شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، از ۱۴۴ سر موش نر نژاد ویستار (با وزن ۲۲۰-۲۰۰ گرم)، خریداری شده از دانشگاه تهران استفاده شد. موش‌ها یک هفته قبل از شروع آزمایش، در شرایط استاندارد (با دمای 22 ± 2 سانتیگراد و تناوب نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی) نگهداری شدند.

درد و التهاب، از مشکلات جدی هستند که همراه با بیماری‌های مختلف بروز می‌کنند (۱). حس درد به عنوان مکانیسم دفاعی معرفی شده که نشان‌دهنده مساعد نبودن شرایط فیزیولوژیک بدن می‌باشد (۲). سیستم‌های مختلفی در مکانیسم‌های ایجاد درد نقش دارند. در مقابل، سیستم‌های ضد درد درون‌زاد و یا غیر درون‌زاد می‌توانند پیام‌های درد را در ابتدای ورودشان به طناب نخاعی متوقف سازند (۳).

اوپیوئیدها از جمله ترکیبات با خواص ضد درد هستند که به دو شکل وجود دارند: اوپیوئیدهای درون‌زاد که به طور طبیعی در بدن هستند و اوپیوئیدهای برون‌زاد مانند مورفین که در خارج از بدن بوده و به عنوان داروهای ضد درد مصرف می‌شوند (۴).

التهاب شامل دو سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی است و به پاسخ دفاعی و غیراختصاصی به هرگونه اختلال در عملکرد بافتی گفته می‌شود (۵). تجویز داروهای ضدالتهابی استروئیدی همچون دگزامتازون (۶)، اگرچه اثرات چشمگیری در کاهش التهاب دارند، اما مصرف طولانی مدت آن‌ها با عوارضی همچون تضعیف سیستم ایمنی و پوکی استخوان همراه است (۷).

ارس از گیاهان دارویی جنس *Juniperus* و متعلق به خانواده *Cupresseceae* می‌باشد. گونه *Juniperus xcelasae.M. Bieb* ارس درختچه‌ای بلند یا درختی همیشه‌سبز با ارتفاعی حدود ۲۰ متر و با تنه‌ای به قطر ۲ متر، قادر به رشد در شرایط سخت و تنش‌زا است (۸). مخروط‌های ماده این گیاه به صورت گوشتی و عمدتاً منفرد بوده (۹) و روی دورترین شاخه قرار دارند که توسط برگ‌های سبز یا مایل به ارغوانی احاطه شده‌اند؛ درحالی‌که مخروط نر به شکل منفرد، انتهایی و عموماً روی دورترین شاخه واقع شده است. برگ‌های تازه، سه برگچه‌ای و سوزنی هستند، اما برگ‌های بالغ، فلس‌مانند و سبز مایل به زرد می‌باشند (۱۰). شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهند عصاره این گیاه اثرات ضددردی و ضدالتهابی در مدل‌های مختلف رفتاری ایجاد می‌کند (۱۱)؛ به عنوان مثال نتایج پژوهش‌های پیشین نشان داده‌اند خاصیت ضدالتهابی ترکیب *Alpha-pinene* موجود در آن، به علت پروستاگلاندین E1 می‌باشد (۱۲)، که با مهار تحریک ترشح واسطه‌های التهابی، خاصیت ضد دردی نیز اعمال می‌کند (۱۳).

به صورت گاوآژ) و گروه کنترل مثبت (دریافت کننده داروی دگزامتازون با دوز ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بررسی شد. چهار گروه مابقی، دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی دانه اسفرزه را به صورت گاوآژ خوراکی به مدت ۲۸ روز دریافت کردند.

در این مطالعه از مخروطهای ماده گیاه ارس (با شماره هرباریومی ۱۸۱۴) و دانه گیاه اسفرزه (با شماره هرباریومی ۱۳۵۹ جمع آوری شده از فیروزکوه تهران) استفاده شد. دو گیاه فوق در شرایط استاندارد، دور از نور خورشید، رطوبت و آلودگی میکروبی با تهویه مناسب در سایه خشک شده، سپس به وسیله آسیاب الکتریکی به صورت پودر درآمدند.

برای تهیه عصاره مخروط ماده ارس، ۱۰۰ گرم مخروط ماده پودر شده در ۲۰۰ میلی لیتر محلول هیدروالکلی اتانول - آب (اتانول ۱۴۰ - آب مقطر ۶۰) به مدت ۵ روز (بر روی دستگاه Stirrer) خیسانده شد و در ادامه، با کاغذ واتمن صاف گردید. حاصل صافی ابتدا به وسیله دستگاه تقطیر، سپس آن خشک شد. درصد وزن عصاره خشک حاصل، محاسبه و برای حل کردن آن از محلول نرمال سالین (با دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) جهت انجام گاوآژ خوراکی به موشها استفاده شد (۱۷).

برای تهیه عصاره دانه اسفرزه، ۱۰۰ گرم دانه پودر شده گیاه در ۵۰۰ میلی لیتر الکل ۷۰٪ به مدت ۷۲ ساعت بر روی دستگاه Stirrer قرار داده شد. بعد از ۷۲ ساعت، محتویات داخل ظرف سه بار به وسیله کاغذ صافی و قیف شیشه‌ای داخل ارلن صاف گردید، سپس محلول صاف شده درون بالن ریخته شد و در دستگاه روتاری قرار گرفت. بعد از خروج حلال، مایع درون بشر ریخته شد و به مدت ۱۰ روز در آن قرار گرفت تا خشک شود. درصد وزن عصاره خشک حاصل، محاسبه و برای حل کردن آن از محلول نرمال سالین به منظور تهیه دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم استفاده گردید (۱۸).

دستگاه تست درد، جعبه‌ای شیشه‌ای به ابعاد ۱۳×۱۲×۳۰ سانتی متر است. قیف شیشه‌ای در سطح فوقانی قرار می‌گیرد و برای مشاهده حرکات بهتر حیوان، یک آینه با زاویه ۴۵ درجه در زیر آن و روبروی مشاهده کننده قرار دارد.

همه حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند و در قفس‌های مخصوص فلزی به صورت سه تایی گذاشته شدند. تمامی آزمایش‌ها در این پژوهش طبق اصول و مقررات کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفت.

موش‌ها به صورت تصادفی به دو گروه شامل: گروه درد (شامل ۱۲ زیرگروه) و التهاب (شامل ۱۲ زیرگروه) تقسیم شدند که در هر زیرگروه ۶ موش قرار داشت. از ۱۲ گروه موش موجود در گروه درد، در شش گروه اثرات عصاره هیدروالکلی مخروط ماده ارس شامل: زیرگروه شاهد (دریافت کننده محلول نرمال سالین به صورت گاوآژ به مدت ۲۸ روز) و زیرگروه کنترل مثبت (دریافت کننده مورفین با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم به روش داخل صفاقی) بررسی گردید. چهار زیرگروه دیگر هر کدام عصاره مخروط ماده گیاه ارس را در دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۲۸ روز به صورت گاوآژ خوراکی دریافت کردند، سپس تست فرمالین روی آن‌ها انجام شد.

در شش گروه دیگر اثرات هیدروالکلی دانه اسفرزه در گروه شاهد (دریافت کننده محلول نرمال سالین، به صورت گاوآژ به مدت ۲۸ روز) و گروه کنترل مثبت (دریافت کننده مورفین با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم به روش داخل صفاقی) بررسی و چهار گروه مابقی به ترتیب دوره‌ای، عصاره هیدروالکلی دانه اسفرزه را با دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت گاوآژ خوراکی به مدت ۲۸ روز دریافت کردند.

در این مرحله از آزمایش، ۱۲ گروه موش وجود داشت که به دو زیرگروه شش تایی تقسیم شدند. در شش زیرگروه اول اثرات ضدالتهابی عصاره هیدروالکلی مخروط ماده ارس در گروه شاهد (دریافت کننده محلول نرمال سالین، به صورت گاوآژ به مدت ۲۸ روز) و گروه کنترل مثبت (دریافت کننده دگزامتازون با دوز ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم به روش داخل صفاقی) بررسی شد. چهار گروه دیگر نیز به ترتیب عصاره مخروط ماده ارس را در دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۲۸ روز به صورت گاوآژ خوراکی دریافت کردند، سپس تست گزین بر روی آن‌ها انجام گرفت.

در شش زیرگروه دیگر، اثرات ضدالتهابی دانه گیاه اسفرزه در گروه شاهد (دریافت کننده محلول نرمال سالین به مدت ۲۸ روز

در این مقایسه هرچه اختلاف وزن بیشتر باشد، میزان التهاب نیز بیشتر است (۲۰).

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰، آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی (برای اثبات فرض نرمال بودن داده‌ها) در سطح معنی‌داری، $p \leq 0/05$ تحلیل شدند. رسم نمودارها به کمک نرم‌افزار Sigma Plot نسخه ۱۲ انجام شد.

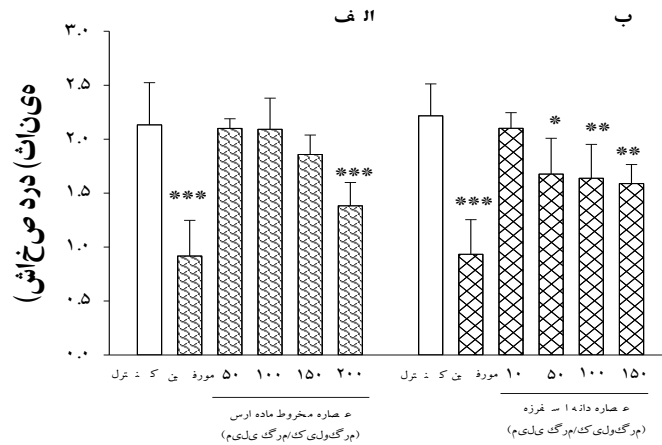
یافته‌ها

نتایج حاصل از گاوآژ عصاره هیدروالکلی مخروط ماده ارس (با دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) به موش‌ها و مقایسه آن‌ها با گروه شاهد (گروه دریافت‌کننده نرمال‌سالین)، کاهش معنی‌داری در فاز حاد درد (دوز ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم عصاره) نشان داد ($p \leq 0/001$). در دیگر گروه‌های تجربی نیز میانگین درد با افزایش دوز عصاره کاهش یافت ($p \leq 0/001$ ، $f(5, 30) = 20/407$ (نمودار شماره ۱: الف). نتایج حاصل از گاوآژ عصاره هیدروالکلی دانه گیاه اسفرزه (در دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) به موش‌ها و مقایسه آن‌ها با گروه شاهد، کاهش معنی‌داری را در فاز حاد درد (دوز ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم عصاره) نشان داد ($p \leq 0/05$ ، $p \leq 0/01$ ، $p \leq 0/001$) ($f(5, 30) = 16/475$ ، $p \leq 0/001$) (نمودار شماره ۱: ب).

همچنین گروه‌های شاهد (نرمال‌سالین)، بیشترین زمان لیسیدن و گروه‌های کنترل مثبت (دریافت‌کننده مورفین با دوز ۱۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) و گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای مختلف مخروط ماده ارس و دانه اسفرزه، کمترین مدت‌زمان لیسیدن را به خود اختصاص دادند که نشان‌دهنده کاهش درد در گروه‌های فوق بود.

برای انجام تست، ابتدا حیوان جهت سازگاری با محیط به مدت ۱۵ دقیقه در جعبه استاندارد شیشه‌ای گذاشته شد، سپس برحسب اینکه حیوان متعلق به کدام گروه باشد، محلول نرمال‌سالین و یا مورفین به صورت داخل صفاقی به حیوان تزریق و پس از آن نیز برای اعمال اثر تیمار، دوباره حیوان به مدت ۳۰ دقیقه در زیر قیف قرار گرفت. پس از گذشت زمان موردنظر، ۰/۰۲ میلی‌لیتر فرمالین ۲/۵٪ به صورت زیرجلدی به کف پای عقبی حیوان تزریق شد. پس از آن، حیوان به دستگاه تست درد بازگردانده شد تا رفتارهای حیوان موردبررسی قرار گیرد. از آنجایی که لیسیدن پای عقبی به ندرت در طی رفتار طبیعی حیوان رخ می‌دهد، پاسخی که در صورت استفاده از پای عقبی ایجاد می‌شود، در مقایسه با پای جلویی بیشتر به درد اختصاص دارد. مدت‌زمان تکان دادن، لیسیدن و یا جویدن پا، به عنوان زمان لیسیدن در نظر گرفته شد و در دو مرحله (۵-۰ دقیقه) به عنوان فاز حاد (۳۰-۲۰ دقیقه) و به عنوان فاز مزمن برحسب ثانیه اندازه‌گیری شدند (۱۹). در این تست که برای سنجش میزان التهاب از آن استفاده می‌شود، پس از اتمام زمان گاوآژ عصاره گیاهی دوره‌ای مختلف به حیوان و تزریق داخل صفاقی سالین و دگزامتازون (با دوز ۱۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) و گذشت مدت‌زمان ۳۰ دقیقه جهت اعمال اثر تیمار، مقدار ۰/۰۳ میلی‌لیتر گزین که به عنوان یک ماده التهاب‌آور شناخته می‌شود، به سطح قدامی و پشتی لاله گوش راست حیوان تجویز شد. پس از گذشت ۲ ساعت حیوان کشته شد، سپس هر دو گوش حیوان جدا و با استفاده از چوب‌پنبه سوراخ‌کن، برش‌های ۷ میلی‌متری از هر دو گوش حیوان تهیه و وزن گردید. اختلاف وزن برش‌های ایجادشده در گوش چپ و راست هر حیوان، میزان التهاب را درگوشی که گزین به آن تزریق شده بود نشان می‌داد.

(دستی لی لی م ۰/۰۲ نی ل امرف)



نمودار شماره ۱: تأثیر عصاره هیدروالکلی مخروط ماده گیاه ارس (الف) و دانه گیاه اسفرزه (ب) بر درد حاد (۰-۵ دقیقه) در تست فرمالین.

*** نشان دهنده تفاوت معنی دار در مقایسه با گروه شاهد است ($p \leq 0.001$).

** نشان دهنده تفاوت معنی دار در مقایسه با گروه شاهد است ($p \leq 0.01$).

* نشان دهنده تفاوت معنی دار در مقایسه با گروه شاهد است ($p \leq 0.05$).

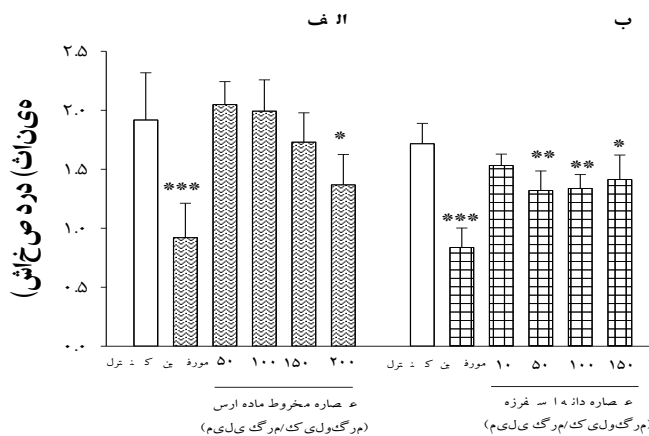
نتایج به صورت $mean \pm Sd$ بیان شده اند. آنالیز با واریانس یک طرفه و تست پشتیبان توکی صورت گرفته است.

در گروه های دریافت کننده دوز ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم ($p \leq 0.001$)، ($p \leq 0.001$) و ($p \leq 0.05$) نشان داد $\{f(30,5)=20.771, p \leq 0.001\}$.

با توجه به یافته های فوق، گروه های شاهد (دریافت کننده نرمال سالین)، بیشترین مدت زمان لیسیدن و گروه های کنترل مثبت (دریافت کننده مورفین با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و گروه های دریافت کننده دوزهای مختلف این دو عصاره، کمترین مدت زمان لیسیدن را به خود اختصاص دادند که نشان دهنده اثرات عصاره این دو گیاه بر روی کاهش درد در فاز مزمن بود.

نتایج حاصل از گاوآژ عصاره هیدروالکلی مخروط ماده ارس (در دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و مقایسه آن ها با گروه شاهد (گروه دریافت کننده نرمال سالین)، نشان دهنده کاهش درد در فاز مزمن گروه دریافت کننده دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ($p \leq 0.05$) بود $\{f(30,5)=14.446, p \leq 0.001\}$ (نمودار شماره ۲: الف). نتایج حاصل از گاوآژ عصاره هیدروالکلی دانه گیاه اسفرزه در دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم به موش ها و مقایسه آن ها با گروه شاهد، کاهش معنی داری در فاز مزمن درد

(دستی لی لی م ۰/۰۲ نی ل امرف)



نمودار شماره ۲: تأثیر عصاره هیدروالکلی مخروط ماده گیاه ارس (الف) و دانه گیاه اسفرزه (ب) بر درد مزمن (۲۰-۳۰ دقیقه) در تست فرمالین.

*** نشان دهنده تفاوت معنی دار در مقایسه با گروه شاهد است ($p \leq 0.001$).

** نشان دهنده تفاوت معنی دار در مقایسه با گروه شاهد است ($p \leq 0.01$).

* نشان دهنده تفاوت معنی دار در مقایسه با گروه شاهد است ($p \leq 0.05$).

نتایج به صورت $mean \pm Sd$ بیان شده اند. آنالیز با واریانس یک طرفه و تست پشتیبان توکی صورت گرفته است.

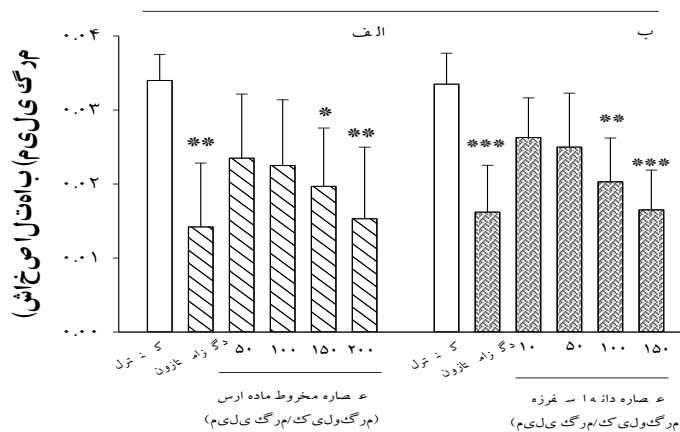
و مقایسه آن‌ها با گروه شاهد، کاهش سطوح التهاب را در گروه دریافت کننده دوز ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم برکیلوگرم عصاره نشان داد ($p \leq 0/001$)، ($p \leq 0/01$)، ($p \leq 0/001$) { $f(30,5)=7/826$, $p \leq 0/001$ } (نمودار شماره ۳: ب).

گروه شاهد (دریافت کننده نرمال سالین)، بیشترین میزان التهاب و گروه‌های کنترل مثبت (دریافت کننده دگزامتازون با ۱۵ میلی گرم برکیلوگرم) و دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره‌های فوق، کمترین میزان التهاب را به خود اختصاص دادند.

نتایج حاصل از گاوآژ عصاره هیدروالکلی مخروط ماده ارس در دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم برکیلوگرم به موش‌ها و مقایسه آن‌ها با گروه شاهد (دریافت کننده نرمال سالین)، اختلاف معنی داری در کاهش التهاب در گروه‌های دریافت کننده دوز ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم برکیلوگرم نشان داد ($p \leq 0/05$)، ($p \leq 0/01$) { $f(30,5)=4/651$, $p \leq 0/01$ }.

نتایج حاصل از گاوآژ عصاره هیدروالکلی دانه گیاه اسفرزه (در دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم برکیلوگرم) به موش‌ها

(دردی لی لی م ۰/۰۳ نی لی از)



نمودار شماره ۳: تأثیر عصاره هیدروالکلی مخروط ماده گیاه ارس (الف) و دانه گیاه اسفرزه (ب) بر التهاب در تست زایلن.

*** نشان دهنده تفاوت معنی دار در مقایسه با گروه شاهد است ($p \leq 0/001$).

** نشان دهنده تفاوت معنی دار در مقایسه با گروه شاهد است ($p \leq 0/01$).

* نشان دهنده تفاوت معنی دار در مقایسه با گروه شاهد است ($p \leq 0/05$).

نتایج به صورت $mean \pm Sd$ بیان شده‌اند. آنالیز با واریانس یک طرفه و تست پشتیبان توکی صورت گرفته است.

بحث

در پژوهش حاضر، اثر ضد درد و ضدالتهابی عصاره هیدروالکلی مخروط ماده گیاه ارس و دانه گیاه اسفرزه با استفاده از تست فرمالین (برای تعیین اثر ضد دردی) و تست تورم گوش القاشده با زایلن (برای تعیین اثر ضدالتهابی) مورد بررسی قرار گرفت.

آزمون فرمالین، معتبرترین مدل برای ارزیابی دردهای بالینی است. بروز درد طی دو مرحله رخ می‌دهد: ۱- درد در فاز حاد که در تست فرمالین، ناشی از تحریک فیبرهای عصبی توسط فرمالین بوده و ۲- درد در فاز مزمن (تأخیری) که یک فرآیند التهابی است و ناشی از هیستامین، پروستاگلاندین، سروتونین و برادی کینین است (۱۷). بنابراین، درد در مرحله دوم عمدتاً به صورت التهابی بروز می‌کند. داروهای اویپوئیدی مانند

مورفین که اساساً به صورت مرکزی عمل می‌کنند، هر دو فاز القای درد به وسیله فرمالین را مهار کرده؛ درحالی که داروهای NSAID مانند آسپرین و استروئیدهایی مثل دگزامتازون با اثر محیطی، فقط فاز تأخیری درد ناشی از فرمالین را مهار می‌کنند (۲۱)؛ در نتیجه از طریق داروهای ضد دردی، امکان بررسی و شناسایی مکانیزم‌های درد و ضد دردی فراهم می‌شود (۱۹).

التهاب ناشی از تزریق فرمالین، بیشتر به علت آزاد شدن واسطه‌های التهابی محیطی بوده و این واسطه‌ها در پی فاز اول فرمالین یا فاز حاد که در آن گیرنده‌های درد تحریک می‌شوند، آزاد می‌گردند (۲۰). علت مهار درد در فاز مزمن توسط داروهای ضدالتهابی این است که این داروها با مهار سنتز پروستاگلاندین‌ها، از پردردی ناشی از التهاب جلوگیری می‌کنند (۲۲).

علاوه بر فعالیت ضد دردی و ضدالتهابی این دو مونوترپن، اثرات ضدالتهابی ترکیب Sabinene نیز که در عصاره مخروط ماده ارس وجود دارد به اثبات رسیده است. این ترکیب همچون ترکیب e-caryophyllene با مهار آزاد شدن میانجی‌های التهاب نظیر سایتوکین‌ها سبب بهبود اثرات التهابی می‌شود (۲۵). دیگر ترکیب موجود در عصاره مخروط ماده ارس، Myrcene است که با مهار کانال‌های سدیمی دریچه‌دار وابسته به ولتاژ، سنتز پروستاگلاندین‌ها را کاهش می‌دهد (۲۶).

در ارتباط با گیاه اسفرزه نیز نتایج مشابهی به دست آمد؛ به‌طوری‌که میانگین درد در هر دو مرحله حاد و مزمن با افزایش دوز، رابطه معکوسی نشان داد. تیمار با دوزهای مختلف عصاره دانه اسفرزه و بررسی اثرات ضدالتهابی آن حاکی از این است که با افزایش دوز عصاره، کاهش معنی‌داری در شاخص التهاب القاشده با زایلین نسبت به گروه کنترل سالیین ایجاد می‌شود.

ترکیبات موجود در دانه اسفرزه شامل: اسید بنزوئیک، اسید کافئیک، P-کوماریک، اسید فوماریک، اسید آسکوربیک و اسیدهای آلی دیگر، آلکالوئیدها، آمینواسیدها، قندها و ترکیبات پلی‌ساکاریدی می‌باشد (۱۵). اگرچه نقش ضد دردی و ضدالتهابی این ترکیبات در خود گیاه مورد بررسی قرار نگرفته، ولی شواهد زیادی از آزمایش‌ها کلینیکی بر روی گیاهان دیگر که حاوی چنین ترکیباتی است اثرات ضد دردی و ضدالتهابی را در آن‌ها ثابت می‌کند؛ به‌عنوان مثال گالیک اسید موجود در عصاره، با اتصال به جایگاه فعال آنزیم‌های COX1 و COX2 باعث مهار فعالیت این آنزیم‌ها می‌شود. تحقیقات نشان داده‌اند این ترکیب طبیعی می‌تواند با خاصیت انتخابی و قابل‌بازگشت خود در مهار فعالیت آنزیمی و واکنش‌های اکسیداسیون، گزینه مناسبی برای استفاده در داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی باشد (۲۷).

آکوبین نیز یک ایریدوئید گلوکوزیدی است که براساس مطالعات، این ترکیب موجب مهار تولید TNF و IL-6 در ماست‌سل‌ها می‌شود. علاوه بر این، Recio و همکاران در سال ۱۹۹۴ گزارش دادند آکوبین عامل مؤثری در برابر ادم القاشده با کاراژینان است (۲۸).

با توجه به اینکه التهاب به‌عنوان یک فرآیند محیطی مولد درد در تست فرمالین شناخته شده؛ بنابراین احتمال می‌رود بخشی از اثر ضد دردی این عصاره به‌علت اثر ضدالتهابی آن باشد.

در پژوهش حاضر، عصاره ارس (در فاز اول و دوم تست فرمالین) با دوزهای مختلف همچون مورفین که یک داروی رایج در تسکین درد است، اثرات ضد دردی نشان داد. همچنین تیمار با دوزهای مختلف عصاره ارس و بررسی اثرات ضدالتهابی آن حاکی از این بود که با افزایش دوز عصاره، کاهش معنی‌داری در شاخص التهاب القاشده با زایلین نسبت به گروه کنترل سالیین مشاهده می‌گردد. داروی دگزامتازون نیز به‌عنوان یک ترکیب استروئیدی ضدالتهاب چنین اثری را ایجاد می‌کند.

داروهایی با فعالیت مرکزی مثل اوبیوئیدها هر دو مرحله را به‌طور یکسانی مهار می‌کنند. اثر تولیدشده در مرحله اولیه احتمالاً منجر به اثرات فوری و مستقیم بر گیرنده‌های حسی، گیرنده‌های برادی‌کینین و یا مسیر گلوتاماترژیک می‌شود؛ درحالی‌که مرحله دوم وابسته به پاسخ‌های التهابی القاشده به‌وسیله آبتشار مسیر مربوط به اسید آراشیدونیک است و احتمالاً این مرحله، پاسخ به درد و التهابی است که می‌تواند با داروهای ضدالتهابی مهار گردد (۲۳).

در بررسی فیتوشیمیایی میوه گیاه ارس مشخص گردید جزء اصلی را *Alpha-pinene* تشکیل می‌دهد که از ترکیبات آلی مونوترپن بوده و دارای اثرات ضد درد و ضدالتهاب است (۱۱). خواص ضدالتهابی *Alpha-pinene* وابسته به اثراتی است که روی سلول‌های خونی، به‌خصوص ماکروفاژها اعمال می‌گردد؛ بدین ترتیب که فعالیت واسطه‌هایی همچون اینترلوکین‌ها، α -TNF، نیتریک اکساید و پروتئین کیناز فعال‌شونده با میتوزن را مهار کرده که به‌نوبه خود سبب مهار مسیرهای پیش‌برنده التهابی می‌شود (۱۲). علاوه بر ترکیب فوق، عصاره دارای ترکیبات دیگری همچون Limonene بوده که دارای خواص ضد دردی است. مطالعات پیشین نشان داده‌اند ترکیب فوق در تست فرمالین، زمان لیسیدن را در فاز دوم درد کاهش می‌دهد؛ به‌طوری‌که استفاده از نالوکسان آنتاگونیست گیرنده‌های اوبیوئیدی نیز اثر ضددردی این ماده را مهار نمی‌کند؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت اثر ضد دردی آن به‌واسطه مهار سنتز میانجی‌گرهای دخیل در فرآیندهای التهاب می‌باشد (۲۴).

نتیجه گیری

ترکیبات مختلف موجود در عصاره‌های فوق در دوزهای متفاوت با فعال کردن مسیرهای فیزیولوژیک متعدد سبب کاهش دردهای مرکزی، محیطی و سرکوب فرآیندهای التهاب می‌شوند. به نظر می‌رسد بخشی از اثرات ضد دردی و ضدالتهابی این دو گیاه احتمالاً به علت مهار تشکیل و آزادسازی ترکیبات واسطه‌ای التهاب است. با توجه به اینکه در پژوهش حاضر دانه گیاه اسفرزه و مخروط ماده ارس، اثرات ضد دردی و ضدالتهابی نشان دادند؛ لذا با انجام مطالعات بیشتر، چنین گیاهانی می‌توانند جایگزین مناسبی برای داروهای شیمیایی ضد دردی و ضدالتهابی باشند.

تشکر و قدردانی

این مقاله با کد اخلاق IR.UMZ.REC.1397.23 به تصویب رسیده است.

بدین وسیله از اعضای بخش فیزیولوژی جانوری دانشکده علوم زیستی دانشگاه خوارزمی که در انجام این پژوهش ما را یاری کردند سپاسگزاری می‌کنیم.

ترکیب دیگر موجود در دانه این گیاه، P-کوماریک اسید (P-CA) بوده که قادر است میانجی التهاب (COX2) و سیتوکین‌ها (TNF- α , IL-1 β) (از فاکتورهای مهم در التهاب) را مهار کند. همچنین این ترکیب با تأثیر بر کاهش بیان میانجی التهاب TNF- α ، اثرات ضدالتهابی قابل توجهی در موش‌های صحرایی مبتلا به آرتروز یا ورم مفاصل دارد. P-CA می‌تواند به‌عنوان عامل سرکوب‌کننده سیستم ایمنی در درمان بیماری‌های التهابی خودایمنی مانند آرتریت روماتوئید نیز عمل کند (۲۹). به‌طور کلی مطالعات نشان داده‌اند اثرات ضدالتهابی ترکیبات مختلف، احتمالاً به دلیل مهار سیستم‌های آنزیمی از قبیل مسیرهای سیکلواکسیژناز و ۵-لیپواکسیژناز بوده که به‌نوبه خود سبب مهار متابولیسم آراشیدونیک اسید، مهار تشکیل پروستاگلاندین، NO و سایتوکین‌ها که مواد واسطه التهاب هستند، می‌شود (۲۹). همچنین به نظر می‌رسد بخشی از اثرات ضدالتهابی عصاره هیدروالکلی دانه اسفرزه، فعال کردن چنین مسیرهایی می‌باشد.

References:

1. Elisabetsky E, Amador TA, Albuquerque RR, Nunes DS, Carvalho Ado C. Analgesic activity of *Psychotria colorata* (Willd. ex R. & S.) Muell. Arg. Alkaloids. *J Ethnopharmacol* 1995;48:77-83. PubMed
2. Guyton AC, Hall JE. Text book of medicinal physiology, 11th ed. Philadelphia: Saunders/Elsevier; 2011. p. 264-76. Link
3. Wang J, Chen Y, Carlson S, Li L, Hu X, Ma Y. Interactive effects of morphine and scopolamine, MK-801, propranolol on spatial working memory in rhesus monkeys. *Neurosci Lett* 2012;523(2), 119-24. PubMed
4. Kroner S, Rosenkranz JA, Grace AA, Barrionuevo G. Dopamine modulates excitability of basolateral amygdala neurons in vitro. *J Neurophysiol* 2005;93(3):1598-610. PubMed
5. Ashley NT, Weil ZM, Nelson RJ. Inflammation mechanisms, costs, and natural variation. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 2012;43(1):385-406. Link
6. Hunkaar S, Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain* 1987;30:103-14. PubMed
7. Prasoon P, Gupta S, Kumar R, Gautam M, Kaler S, Ray SB. Role of fosaprepitant, a neurokinin Type 1 receptor antagonist, in morphine-induced antinociception in rats. *Indian J Pharmacol* 2016;48(4):394-8. PubMed
8. Weli AM, AL-Hinai JRK, Al-Mjrafi JMA, Alnaaimi JRS, Hossain MA, Saeed S, et al. Effect of different polarities leaves crude extracts of Omani juniperus excels on antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities and their biochemical screening. *Asian Pacific J Reprod* 2014;3(3):218-23. Link

9. Khan M, Khan AU, Najeeb-ur R, Gilani AH. Pharmacological explanation for the medicinal use of *Juniperus excelsa* in hyperactive gastrointestinal and respiratory disorders. *J Nat Med* 2012;66(2):292-301. PubMed
10. Baravardi H, Ranjbar GA, Abadi SKF. Investigation of the Effects of Growth Regulators on Callus induction in *Juniperus excelsa* L. *Bull Environ Pharmacol Life Sci* 2014;4:73-7. [Link](#)
11. Ehsani E, Akbari K, Teimouri M, Khadem A. Chemical composition and antibacterial activity of two *Juniperus* species essential oils. *Afr J Microbiol Res* 2012;6(38):6704-10. [Link](#)
12. Russo EB. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *Br J Pharmacol* 163(7):1344-64. PubMed
13. Li XJ, Yang YJ, Li YS, Zhang WK, Tang HB. α -Pinene, linalool, and 1-octanol contribute to the topical anti-inflammatory and analgesic activities of frankincense by inhibiting COX-2. *J Ethnopharmacol* 2016;179:22-6. [PubMed](#)
14. Karimzadeh G, Omidbaigi R. Growth and seed characteristics of isabgol (*Plantago ovata* Forsk) as influenced by some environmental factors. *J Agric Sci Technol* 2004;6(3):103-10. [Link](#)
15. Naghdi Badi H, Dastpak A, Ziai SA. A Review of Psyllium Plant. *J Med Plants* 2004;1(9):1-14. [FullText in Persian] [Link](#)
16. Shahriari T, Nabi Bidhendi G. *Plantago ovata* Medicinal plant Water Treatment. *J Med Plants By-products* 2012;1:67-70. [Link](#)
17. Gumral N, Kumbul DD, Aylak F, Saygin M, Savik E. *Juniperus communis* Linn oil decreases oxidative stress and increases antioxidant enzymes in the heart of rats administered a diet rich in cholesterol. *Toxicol Ind Health* 2015;31(1):85-91. PubMed
18. Ghorbani Ranjbari A, Yaryar M, Joybar F, Ghorbani N. Evaluation of antinociceptive effects of *Ziziphora tenuior* L. in adult male mice. *Sci J Res* 2014;62-69:(4)16. [Link](#)
19. Khalilzadeh E, Vafaei Saiah G, Hasannejad H, Ghaderi A, Ghaderi S, Hamidian G, et al. Antinociceptive effects, acute toxicity and chemical composition of *Vitex agnus-castus* essential oil. *Avicenna J Phytomed* 2015;5(3):218-30. PubMed
20. Hosseinzadeh H, Younesi HM. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice. *BMC Pharmacol* 2002;2(1):7. PubMed
21. Barzgarnejad A, Azadbakht M, Emadian O, Fattahi M. In vitro effect of juniper fruit extract on dissolution of urinary stones. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2010;20(75):30-36. [Link](#)
22. Coderre TJ, Melzack R. The contribution of excitatory amino acids to central sensitization and persistent nociception after formalin-induced tissue injury. *J Neurosci* 1992;12:3665-70. PubMed
23. Mard SA, Bahari Z, Eshaghi N, Farbood Y. Antiulcerogenic effect of *Securigera securidaca* L. seed extract on various experimental gastric ulcer models in rats. *Pak J Biol Sci* 2008;11(23):2619-23. PubMed
24. Richardson JD, Vasko MR. Cellular mechanisms of neurogenic inflammation. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;302(3):839-45. PubMed
25. Bonjardim LR, Cunha ES, Guimarães AG, Santana MF, Oliveira MG, Serafini MR, et al. Evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive properties of p-cymene in mice. *Z Naturforsch C* 2012;67(1-2):15-21. PubMed
26. Han X, Parker TL. Anti-inflammatory activity of Juniper (*Juniperus communis*) berry essential oil in human dermal fibroblasts. *J Cogent Med* 2017;4(1). [Link](#)
27. Recio MC, Giner RM, Mániz S, Ríos JL. Structural consideration on the iridoids as anti-inflammatory agents. *Planta Med* 1994;60(3):232-4. PubMed
28. Zhao Ya, Liu J, Lio Ch, Zeng X, Li X, Zhao J. Anti-inflammatory effects of P-coumaric Acid in LPS-Stimulated RAW264.7 Cells: Involvement of NF- κ b and MAPKs pathways. *Med Chem* 2016;6(5):327-30. [Link](#)
29. Eidi A, Roustaiian A, Eidi M, Shabani S. Anti-inflammatory effect of ethanolic extract and essential oil of *Eucalyptus globulus* in mice. *Med Sci J Islamic Azad Univ* 2009;19(4):217-22. [Full Text in Persian] [Link](#)