(مقالهٔ پژوهشی)

مطالعهٔ اثر ضد درد عصارهٔ هیدروالکلی دانهٔ انگور در موش صحرایی به روش آزمون فرمالین

اردشیر ارضی[1*]، علی‌اصغر همتی[1]، محمد محسن مهرابی[2]، امیر سیاهپوش[3]، زهرا نظری[4]

۱- استاد گروه فارماکولوژی.
۲- دکترای حرفه‌ای داروسازی.
۳- استادیار گروه فارماکوگنوزی.
۳-مربی گروه سم‌شناسی.

۱-گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکدهٔ داروسازی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، ایران.
۲- دانشکدهٔ داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، ایران.
۳- گروه فارماکوگنوزی دانشکدهٔ داروسازی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و ترکیبات طبیعی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، ایران.
٤- گروه سم شناسی، دانشکدهٔ داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، ایران.

* نویسندهٔ مسؤول:
اردشیر ارضی؛ گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکدهٔ داروسازی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، ایران.
تلفن: ۰۰۹۸۹۱۶۳۱۹۰۵۰۸
Email: arzi_ardeshir@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: به دلیل نقش فزایندهٔ گیاهان دارویی در درمان بیماری‌ها، هدف از این مطالعه بررسی و مقایسهٔ اثر ضد درد عصارهٔ هیدروالکلی دانهٔ Vitis vinifera با مرفین و آسپیرین به‌عنوان ضد دردهای متداول، می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه، عصارهٔ هیدروالکلی دانهٔ انگور از طریق خیساندن تهیه شد. موش‌های صحرایی نر از نژاد ویستار در ۷ گروه ۹ تایی دسته‌بندی شدند. گروه کنترل منفی(سرم فیزیولوژی ۵ ml/kg)، دو گروه کنترل مثبت (یک گروه مرفین ۲/۵ mg/kg و دیگری آسپیرین ۳۰۰ mg/kg) و ٤ گروه درمانی دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ٤۰۰ و ۸۰۰mg/kg از عصارهٔ هیدروالکلی دانهٔ انگور از طریق صفاقی به صورت تک دوز دریافت نمودند. اثر عصاره بر روی فاز ۱ و ۲ درد با استفاده از روش فرمالین مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج دلالت بر این داشتند که اثر ضد درد عصاره (۴۰۰ mg/kg) بر روی فاز اول درد، بیشتر از آسپیرین و کمتر از مورفین بود. اثر ضد درد مزمن آن در فاز دوم درد، کمتر از مورفین و با آسپیرین اختلاف معناداری نداشت.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که عصارهٔ هیدروالکلی دانهٔ انگور روی هر دو فاز حاد و مزمن درد مؤثر می‌باشد. همچنین با توجه به اینکه نالوکسان اثر ضد درد عصاره را در هیچکدام از دو فاز درد کاهش نداد، می‌توان نتیجه گرفت که اثر ضد دردی عصاره از طریق گیرنده‌های اپیوئیدی صورت نمی‌پذیرد.

کلید واژگان: عصارهٔ هیدروالکلی دانهٔ انگور، آسپیرین، مورفین، نالوکسان، فرمالین، درد حاد، درد مزمن، موش صحرایی.

دریافت مقاله: 1390/7/16 **دریافت مقالهٔ اصلاح‌شده**: 1391/5/15 **اعلام قبولی**: 1391/8/1

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

درد یکی از عوامل اصلی در ایجاد ناتوانی، اضطراب و از دست دادن مشاغل محسوب می‌گردد و به طرز چشمگیری بر نظام مراقبت سلامت در سراسر جهان، تأثیرگذار می‌باشد. بدین دلیل تحقیقات در خصوص القای درد و درمان آن در حیوانات آزمایشگاهی همواره به عنوان یکی از زمینه‌های جاذب، جهت تحقیق مطرح بوده است (۱-۷). استفاده از گیاه- درمانی از زمان‌های قدیم در تمدن‌های باستانی رایج بوده و امروزه نیز به صور مختلف اعم از استفاده از فرآورده‌های گیاهی یا عصاره‌های تام آنها در تمام دنیا رایج است (۸-۱۳). در این راستا با توجه به گسترش تقاضا برای گیاه-درمانی و همچنین وجود منابع سرشار گیاهان دارویی در کشورمان، بررسی و تحقیق در این زمینه ضروری است.

انگور با نام علمی Vitis vinifera گیاهی بالا رونده با ریشه‌های عمیق و بسیار منشعب و تنه‌ای چوبی و سست می‌باشد. برگ‌های آن گرد و عموماً دارای ۳ تا ۵ لوب یا تیغه می‌باشند. سطح فوقانی برگ فاقد کرک و سطح تحتانی آن پوشیده از کرک است. دانه‌ها گلابی شکل با پوسته‌ای سخت و دارای فرورفتگی در کناره‌های خود می‌باشد. این گیاه بومی اروپای جنوبی و آسیای غربی است و امروزه در اغلب مناطق معتدل کشت می‌شود (١٤). در ایران مهمترین مناطق تولیدکنندهٔ انگور استان‌های آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی، خراسان و قزوین است.

ترکیبات شیمیایی عصارهٔ دانهٔ انگور عبارت‌اند از: فلاونوئیدها، تانن‌ها (کاتشین و اپی‌کاتشین)، پروآنتوسیانیدین‌ها و ترکیبات غیرفلاونوئیدی مانند رزوراتول (۱۱, ۱۵-۲۰). پتانسیل اثرات حفاظتی عصارهٔ انگور و دانهٔ آن بر قلب، کبد، آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از سطوح بالایی از گلوکز و اکسیداسیون‌های القاءشده بر لیپیدها با دانسیته پایین، آسیب‌های فیبروژنیک ریوی ناشی از بلئومایسین و سرطان پوست تأیید شده است (۲۱-۳۳).

روش بررسی

در این مطالعه از موش‌های صحرایی نر جوان از نژاد ویستار در محدودهٔ وزنی ۱۵۰-۱۲۰ گرم تهیه شده از مجموعهٔ پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور، استفاده شد. حیوانات در اتاق حیوانات دانشکده در دمای ۲±۲۳ درجهٔ سانتی‌گراد و میزان رطوبت ۴۰ تا ۵۰ درصد و شرایط ۱۲ساعت تاریکی و ۱۲ساعت روشنایی در قفس‌های استاندارد نگهداری شدند. موش‌ها در طول نگهداری و مطالعه به غذای فشردهٔ مخصوص حیوانات تهیه شده از کارخانهٔ خوراک دام پارس تهران و آب تصفیه شدهٔ شهر دسترسی کامل داشتند. حیوانات به طور تصادفی در ۷ گروه ۹ تایی دسته‌بندی شده و از هر حیوان در طول مطالعه تنها یک‌بار استفاده شد.

در این مطالعه جهت عصاره‌گیری از دانه‌های انگور، از روش خیساندن استفاده شد. دانه‌ها توسط آسیاب برقی خرد و مقدار ۲۰۰ گرم از پودر گیاه در بشر وارد شدند و به آن اتانول ۷۰ درجه طوری اضافه شد که اتانول تا ۲ سانتی‌متر بالاتر از سطح پودر گیاه را پوشاند. در پایان کار درب ظرف با کاغذ آلومینیومی مسدود و به مدت ۷۲ ساعت، نگهداری شد. در طی مدت خیساندن، ظرف حاوی عصاره، روزی سه‌بار به خوبی مخلوط و بعد از ۷۲ ساعت حاصل خیساندن پس از تفاله‌گیری در ظرفی جمع‌آوری می‌شد. سپس تفاله‌ها مجدداً با الکل ۷۰ درجه شستشو داده شد و به عصارهٔ قبلی اضافه گردید. عصارهٔ به دست آمده ابتدا توسط پنبه و سپس به کمک کاغذ صافی واتمن صاف و به کمک دستگاه تقطیر در خلاء تغلیظ شد. حاصل تغلیظ در آون با دمای ۳۰ تا٤٠ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفته و با از دست دادن کامل حلال به صورت عصارهٔ خشک درآمد. محصول خشک شده توزین (٢٤/٤گرم) و درون ظرف شیشه‌ای تیره رنگ و در هوای خنک و بدون رطوبت نگهداری شد (۱۱).

Archive of SID

www.SID.ir

آزمون فرمالین

برای انجام آزمون از روش Dubuisson and Dennis ،۱۹۷۷ استفاده شد (۴). ابتدا هر یک از حیوانات در یک محفظه از جنس پلکسی‌گلاس به ابعاد (۲۲×۲۲×۲۲cm) روی دستگاه تست فرمالین قرار گرفتند که در زیر سطح شیشه‌ای این دستگاه آینه‌ای با زاویهٔ ۴۵ درجه قرار گرفته که به راحتی فرد مشاهده‌گر می‌توانست چگونگی وضعیت پای حیوان را مورد مشاهده و مطالعه قرار دهد.

حیوانات به ۷ گروه ۹ تایی تقسیم شده و به طریق زیر تحت تجویز داخل صفاقی قرار گرفتند: گروه کنترل منفی دریافت‌کنندهٔ سرم فیزیولوژی (۵ml/kg)، گروه‌های کنترل مثبت به ترتیب دریافت‌کنندهٔ آسپیرین (۳۰۰mg/kg) و مورفین (۲/۵ mg/kg) و گروه‌های تحت آزمایش به ترتیب دریافت‌کننده: ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ mg/kg عصارهٔ هیدروالکلی دانهٔ انگور. در ضمن یک گروه از حیوانات بهترین دوز عصارهٔ هیدروالکلی (۴۰۰mg/kg) را دریافت نمودند و گروه دیگر نالوکسان (۱mg/kg) به همراه عصارهٔ (۴۰۰mg/kg) را دریافت کردند. تمام تزریقات از طریق داخل صفاقی صورت گرفت.

پس از نیم ساعت به کف پنجهٔ پای حیوانات هر گروه میزان ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۲/۵ درصد از طریق زیر جلدی تزریق شد و بلافاصله هر یک از حیوانات از نقطه‌نظر نشان دادن میزان درد، تحت مطالعه قرار گرفتند. باید یادآور شد که زمان ۰ تا ۵ دقیقه بعد از تزریق فرمالین به عنوان فاز ۱ درد محسوب شده و به عنوان یک بلوک به حساب آمد. هر حیوان هر ۱۵ ثانیه یک‌بار مورد ارزیابی قرار گرفته و نمره‌ای دریافت می‌نمود. بنابراین در فاز حاد درد هر حیوان ۲۰ مرتبه مورد سنجش قرار گرفت و نهایتاً معدل این سنجش برای هر یک از گروه‌های این آزمایش مشخص گردید.

از طرفی زمان ۱۵ دقیقه تا ۶۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین به عنوان فاز ۲ درد (درد مزمن) به حساب آمده و این زمان ۴۵ دقیقه‌ای به ۹ بلوک ۵ دقیقه‌ای تقسیم شد. بنابراین در مطالعهٔ فاز مزمن درد، حیوان در هر بلوک ۵ دقیقه‌ای ۲۰ بار مورد سنجش قرار گرفت و برای ۹ بلوک جمعاً هر حیوان ۱۸۰ بار از نقطه نظر درد ارزیابی شده و برای هریک از بلوک‌ها میانگین نمرات ثبت گردید.

در این آزمون روش نمره‌دهی به صورت زیر بود:

الف- چنانچه حیوان بدون توجه به پای تزریق شده راه می‌رفت و می‌نشست و پای تزریق شده به خوبی سنگینی حیوان را تحمل می‌کرد، حیوان فاقد درد بوده و نمرهٔ صفر می‌گرفت.

ب- چنانچه حیوان کف پای تزریق شده خود را به راحتی روی سطح شیشه‌ای قرار نمی‌داد و همچنین سعی می‌نمود که وزن خود را روی پای تزریق نشده قرار دهد، حیوان دارای درد بوده و نمرهٔ ۱ می‌گرفت.

ج- چنانچه حیوان کف پای تزریق شدهٔ خود را از سطح تماس جدا نموده و سعی می‌کرد که آن را روی سطح قرار ندهد و وزن خود را کاملاً روی پای دیگر خود قرار دهد، نمرهٔ ۲ می‌گرفت.

د- چنانچه حیوان پای تزریق شدهٔ خود را لیسید، گاز می‌گرفت یا شدیداً آن را تکان می‌داد، نمرهٔ ۳ می‌گرفت.

داده‌ها بر حسب Mean ± SEM بیان شدند. برای مقایسهٔ میانگین‌ها از آزمون غیرپارامتریک کروسکال والیس استفاده شد. سپس از طریق روش غیرپارامتریک sample K-S، هموژنسیته داده‌ها بررسی شد تا نوع توزیع مشخص شود. چون توزیع نرمال بود، از روش پارامتریک آنووا و به دنبال آن از آزمون کمکی توکی برای تعیین معنادار بودن اختلاف بین گروه‌های مورد بررسی، استفاده شد. لازم به ذکر است که جهت آنالیز داده‌ها از روش General Linear Model نیز استفاده شد و نتایج مشابهی به دست آمد. مقادیر (P<۰/۰۵) به عنوان حد نصاب برای معنادار بودن تفاوت‌ها در نظر گرفته شد.

Archive of SID
www.SID.ir

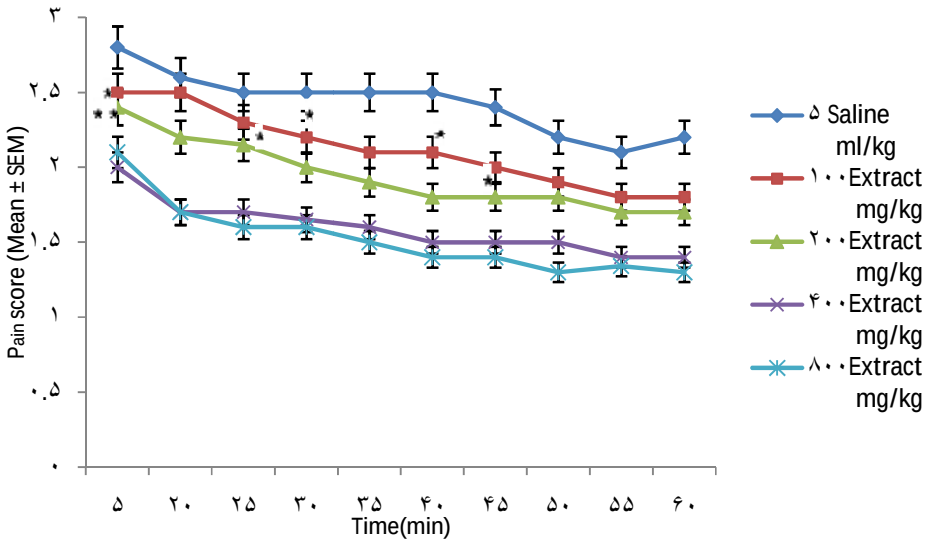
یافته‌ها

دوزهای مختلف عصارهٔ هیدروالکلی دانهٔ انگور (۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰mg/kg) در مقایسه با گروه کنترل منفی به طور معناداری (p<۰/۰۵ و p<۰/۰۰۱) پاسخ به درد را در فاز اول و دوم درد در آزمون فرمالین کاهش دادند که این اثر وابسته به دوز بود (نمودار۱).

در ضمن باید یادآور شد که بیشترین اثر ضددرد مربوط به دوزهای ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره بود، اما از آنجایی‌که بین اثرات این دو دوز تفاوت معناداری مشاهده نشد. لذا دوز ٤۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره به عنوان بهترین دوز انتخاب گردید (نمودار ۲).

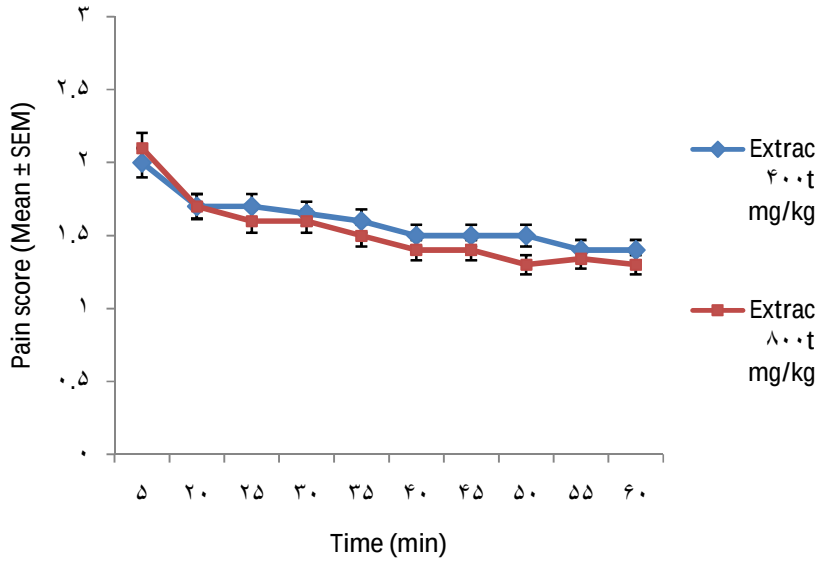
مقایسهٔ اثر ضددرد دوز ٤۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصارهٔ هیدروالکلی دانهٔ انگور با مورفین و آسپیرین نشان داد که اثر ضد درد عصاره در فاز اول درد کمتر از مورفین و بیشتر از آسپیرین (p< ۰/۰۰۱) و در فاز دوم درد کمتر از مورفین و آسپیرین می‌باشد (نمودار۳).

در مقایسهٔ اثر ضددرد گروه دریافت‌کنندهٔ عصارهٔ هیدروالکلی دانهٔ انگور (٤۰۰mg/kg) با گروه دریافت‌کنندهٔ عصارهٔ هیدروالکلی دانهٔ انگور (٤۰۰mg/kg) همراه با نالوکسان (۱mg/kg) تفاوت معناداری مشاهده نشد (نمودار ٤ و ٥).

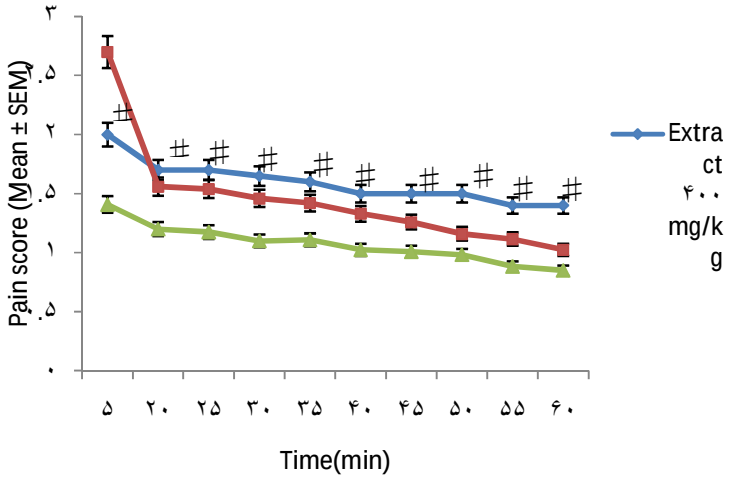


نمودار1: مقایسهٔ اثر ضددرد (فاز اول و دوم درد) تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف (100، 200، 400 و 800 mg/kg) عصارهٔ هیدروالکلی دانهٔ انگور با گروه دریافت‌کنندهٔ سرم فیزیولوژی (5 ml/kg) با استفاده از آزمون فرمالین. نتایج به صورت Mean ± SEM می‌باشد (n=9). تفاوت با گروه دریافت‌کنندهٔ سرم فیزیولوژی معنادار است (p< 0/05*، p< 0/01 **، P< 0/001 #).

www.SID.ir



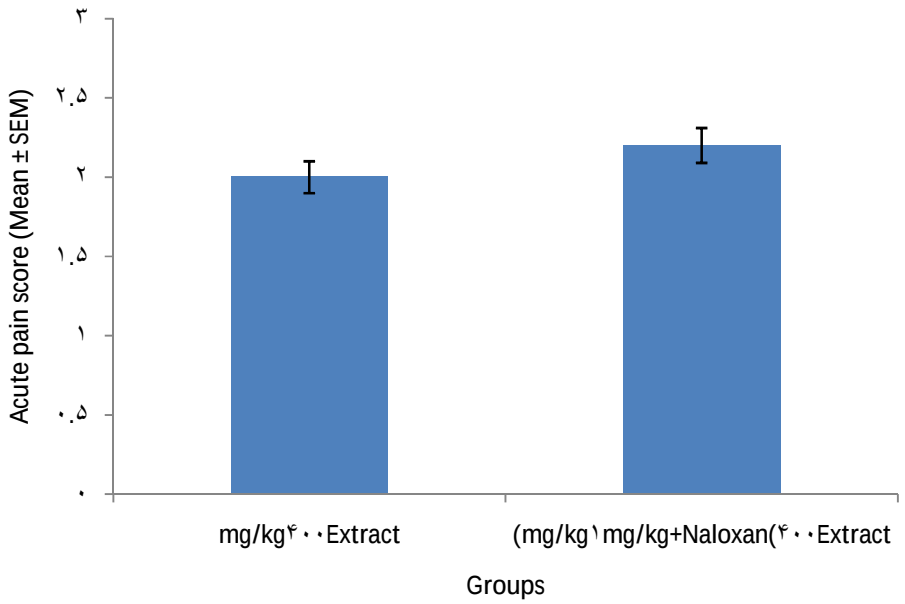
نمودار 2: مقایسهٔ اثر ضددرد (فاز اول و دوم درد) تزریق داخل صفاقی دوز **mg/kg** 400 با دوز **mg/kg**800 عصارهٔ هیدروالکلی دانهٔ انگور با استفاده از آزمون فرمالین. نتایج به صورت **Mean ± SEM** می‌باشد (**n**=9).



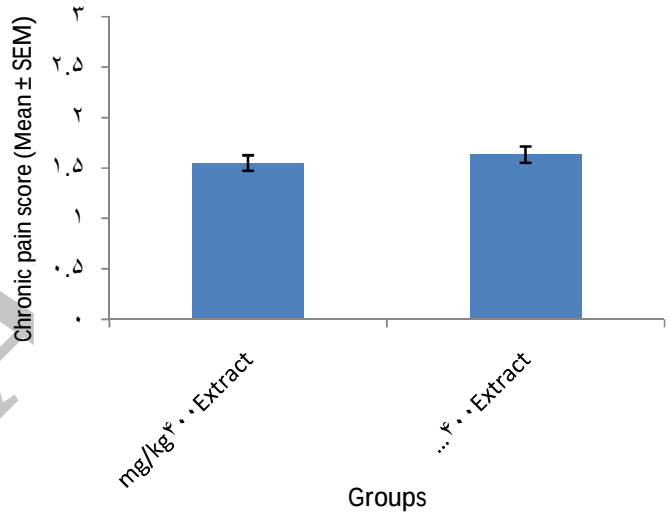
نمودار 3: مقایسهٔ اثر ضددرد (فاز اول و دوم درد) تزریق داخل صفاقی مؤثرترین دوز (**mg/kg**400) عصارهٔ هیدروالکلی دانهٔ انگور با گروه‌های کنترل مثبت (**mg/kg** 2/5 مورفین و **mg/kg**300 آسپیرین) با استفاده از آزمون فرمالین. نتایج به صورت**Mean ± SEM** می‌باشد (**n**=9).

 # تفاوت با مورفین معنادار است (P<0/001). *تفاوت با آسپیرین معنادار است (P<0/001).

www.SID.ir



نمودار 4: مقایسهٔ اثر ضدفاز اول درد (زمان 0 تا 5 دقیقه) تزریق داخل صفاقی عصارهٔ هیدروالکلی دانهٔ انگور به تنهایی (400**mg/kg**) با گروه دریافت‌کنندهٔ عصارهٔ هیدروالکلی دانهٔ انگور(400**mg/kg**) همراه با نالوکسان (**1mg/kg**) با استفاده از آزمون فرمالین. نتایج به صورت **Mean ± SEM** می‌باشد (**n**=9).



نمودار 5: مقایسهٔ اثر ضد درد فاز دوم (زمان 15 تا 60 دقیقه) تزریق داخل صفاقی عصارهٔ هیدروالکلی دانهٔ انگور به تنهایی (400**mg/kg**)با گروه دریافت‌کنندهٔ عصارهٔ هیدروالکلی دانهٔ انگور (400**mg/kg**) همراه با نالوکسان (**1 mg/kg**) با استفاده از آزمون فرمالین. نتایج به صورت **Mean ± SEM** می‌باشد(**n**=9).

www.SID.ir

بحث

آزمون فرمالین یکی از آزمون‌های استاندارد در اندازه-گیری پاسخ در برابر محرک دردزا می‌باشد (۴). تزریق زیر جلدی فرمالین، باعث ایجاد درد دو فازی شده که فاز اول (Early Phase) که فوراً بعد از تزریق فرمالین شروع می‌شود، نتیجهٔ تحریک مستقیم فیبرهای حسی نوع C است، در حالی که فاز دوم درد یا فاز تأخیری (Late Phase) که تقریباً ۱۵ دقیقه بعد از تزریق فرمالین شروع می‌شود، ناشی از فرایند التهاب می‌باشد (۵). این آزمون جهت بررسی مکانیسم ایجاد درد و مطالعهٔ اثر ضد درد ترکیبات می‌باشد. داروهای ضد دردی که اثر خود را از طریق CNS اعمال می‌نمایند، قادرند که هر دو فاز درد ایجاد شده توسط فرمالین را مهار نمایند، در حالی که داروهای ضد دردی که از طریق محیطی عمل می‌نمایند صرفاً می‌توانند موجب مهار فاز دوم درد در آزمون فرمالین گردند(۶).

با توجه به بالابودن محتوای فنلی موجود در عصارهٔ دانهٔ انگور و اثرات ضد درد و ضد التهابی ترکیبات پلی‌فنولیک، و اینکه فلاونوئیدها با فعال کردن مسیرهای عصبی متعددی سبب کاهش درد نوروژنیک و التهابی می‌گردند، احتمال دارد مکانیسم این گیاه در ایجاد اثر ضد دردی از طریق ترکیبات فنلی اعمال شود که دستیابی به مکانیسم دقیق آن، نیازمند به مطالعات بیشتری است (۲, ۷). از طرفی با توجه به اینکه نالوکسان اثر عصاره را در هیچ کدام از دو فاز حاد و مزمن کاهش نداد، می‌توان نتیجه گرفت که عصارهٔ اثر ضد درد خود را حداقل از طریق گیرنده‌های اوپیوئیدی اعمال نمی-کند.

در این مطالعه مشاهده شد که اثر ضد درد عصارهٔ برگ دانه انگور وابسته به دوز بوده و با دوز ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیشترین اثر ضد درد را از خود نشان داد.

مختاری و همکارانش در مطالعه‌ای اثر ضد درد، روغن دانهٔ انگور را به روش فرمالین در موش صحرایی نر بررسی نمودند. بر اساس نتایج مطالعهٔ آنها، روغن هستهٔ دانهٔ انگور دارای اثرات ضد درد بر فاز حاد و مزمن درد بود و احتمال داده شد که این آثار ممکن است به دلیل وجود اسیدهای چرب ضروری، پروسیانیدین‌ها و ترکیبات فلاونوئیدی در انگور باشد. نتایج این مطالعه همچنین حاکی از تشدید اثر ضد درد مرفین توسط روغن هستهٔ دانهٔ انگور بود (۳۴). نتایج مطالعهٔ حاضر در راستای نتایج مطالعهٔ مختاری و همکارانش می‌باشد. به نظر می‌رسد که کاربرد این گیاه بتواند به عنوان یک داروی کمکی اثر ضد درد NSAIDs و مورفین را تشدید نموده و موجب کاهش دوز کاربردی و نهایتاً پیشگیری یا کاهش عوارض جانبی و مسمومیت ناشی از آنها گردد. لازم به یادآوری است که جهت نیل به چنین هدفی نیاز به مطالعات بیشتری بر روی مدل‌های حیوانی دیگر و بر اساس قوانین و ضوابط موجود روی مدل انسانی دارد.

قدردانی

این مقاله از پایان‌نامهٔ آقای محمد محسن مهرابی دانشجوی دکترای داروسازی اهواز استخراج گردید. بدین-وسیله از مرکز تحقیقات فیزیولوژی و معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز به خاطر تصویب پروپوزال و تأمین هزینه‌های انجام این پایان‌نامه (طرح تحقیقاتی - PRC) و همچنین دانشکدهٔ داروسازی صمیمانه سپاسگزاری می‌گردد. در خاتمه از خانم دکتر ندا سیستانی دانشجوی PhD فارماکولوژی جهت همکاری در اصلاح نهایی قسمتی از مقاله تشکر و قدردانی می‌شود.

Archive of SID
www.SID.ir

منابع

1-Beaulieu P, Lussier D, Porreca F, Dickenson A. International Association for the Study of Pain. Pharmacology of pain. Seattle: IASP Press; 2010.

2-Laccetti MS, Kazanowski MK. Pain management. 2nd ed. Sudbury: Jones and Bartlett Publishers; 2008.

3-Maigne R, Nieves WL. Diagnosis and treatment of pain of vertebral origin : a manual medicine approach. 1st ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1996.

4-Knotkova H, Cruciani R, Merrick J. Pain : brain stimulation in the treatment of pain. Hauppauge: Nova Science Publishers; 2010.

5-Melzack R, Canadian Broadcasting Corporation. Patterns of pain [video recording]. Ottawa: The Corporation; 1977.

6-Von Roenn JH, Paice JA, Preodor ME, eds. Current diagnosis & treatment of pain. New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill Medical Pub. Division; 2006.

7-Lotz JC. Animal models of intervertebral disc degeneration: lessons learned. Spine 2004;29(23):2742-50.

8-Chrubasik S, Roufogalis BD, eds. Herbal medicinal products for the treatment of pain. Lismore: Southern Cross University; 2000.

9-Ali-Shtayeh MS, Jamous RM, Jamous RM. Herbal preparation use by patients suffering from cancer in Palestine. Complement Ther Clin Pract 2011;17(4):235-40.

10-Afifi FU, Abu-Irmaileh B. Herbal medicine in Jordan with special emphasis on less commonly used medicinal herbs. J Ethnopharmacol 2000;72(1–2):101-10.

11-Hanlidou E, Karousou R, Kleftoyanni V, Kokkini S. The herbal market of Thessaloniki (N Greece) and its relation to the ethnobotanical tradition. J Ethnopharmacol 2004;91(2–3):281-99.

12-Sun P. The treatment of pain with Chinese herbs and acupuncture. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2002.

13-Cakici I, Ulug HY, Inci S, Tunçtan B, Abacioglu N, Kanzik I, et al. Antinociceptive effect of some amaryllidaceae plants in mice. J Pharm Pharmacol 1997;49(8):828-30.

14-Jones GV, Davis RE. Climate influences on grapevine phenology, grape composition, and wine production and quality for Bordeaux, France. Am J Enol Viticult 2000;51(3):249-61.

15-Fuleki T, Ricardo da Silva JM. Catechin and procyanidin composition of seeds from grape cultivars grown in Ontario. J Agric Food Chem 1997;45(4):1156-60.

16-Fangshi H Y Li, Nanjing J. Study on the Extraction of Main Constituents from Grape. Chemical Industry Times 2004.

17-Yilmaz Y, Toledo RT. Health aspects of functional grape seed constituents. Trends Food Sci Tech 2004;15(9):422-33.

18-Yarnell E. Plant Chemistry in Veterinary Medicine: Medicinal Constituents and Their Mechanisms of Action. In: Wynn SG, Fougère B, eds. Veterinary Herbal Medicine. St. Louis: Mosby Elsevier; 2007. p. 159-82.

19-Yilmaz Y, Toledo RT. Major flavonoids in grape seeds and skins: antioxidant capacity of catechin, epicatechin, and gallic acid. J Agric Food Chem 2004;52(2):255-60.

20-Koga T, Moro K, Nakamori K, Yamakoshi J, Hosoyama H, Kataoka S, et al. Increase of antioxidative potential of rat plasma by oral administration of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. J Agric Food Chem 1999;47(5):1892-7.

21-Agarwal C, Sharma Y, Agarwal R. Anticarcinogenic effect of a polyphenolic fraction isolated from grape seeds in human prostate carcinoma DU145 cells: modulation of mitogenic signaling and cell-cycle regulators and induction of G1 arrest and apoptosis. Mol Carcinog 2000;28(3):129-38.

22-Karthikeyan K, Bai BR, Devaraj SN. Cardioprotective effect of grape seed proanthocyanidins on isoproterenol-induced myocardial injury in rats. Int J Cardiol 2007;115(3):326-33.

23-Zern TL, Wood RJ, Greene C, West KL, Liu Y, Aggarwal D, et al. Grape polyphenols exert a cardioprotective effect in pre-and postmenopausal women by lowering plasma lipids and reducing oxidative stress. J Nutr 2005;135(8):1911-7.

24-Şehirli O, Ozel Y, Dulundu E, Topaloglu U, Ercan F, Şener G. Grape seed extract treatment reduces hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. Phytother Res 2008;22(1):43-8.

25-Cheng M, Gao HQ, Xu L, Li BY, Zhang H, Li XH. Cardioprotective effects of grape seed proanthocyanidins extracts in streptozocin induced diabetic rats. J Cardiovasc Pharmacol 2007;50(5):503-9.

26-Fujii H, Yokozawa T, Kim YA, Tohda C, Nonaka G. Protective effect of grape seed polyphenols against high glucose-induced oxidative stress. Biosci Biotechnol Biochem 2006;70(9): 2104-11.

www.SID.ir

27-Torres JL, Varela B, García MT, Carilla J, Matito C, Centelles JJ, et al. Valorization of grape (Vitis vinifera) byproducts. Antioxidant and biological properties of polyphenolic fractions differing in procyanidin composition and flavonol content. J Agric Food Chem 2002;50(26):7548-55.
28-Jayaprakasha GK, Singh RP, Sakariah KK. Antioxidant activity of grape seed (Vitis vinifera) extracts on peroxidation models in vitro. Food Chem 2001;73(1):285-90.
29-Spayd SE, Andersen-Bagge J. Free amino acid composition of grape juice from 12 Vitis vinifera cultivars in Washington. Am J Enol Viticult 1996;47(4):389-402.
30-Sánchez-Moreno C, A Larrauri J, Saura-Calixto F. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. Food Res Int 1999;32(6):407-12.
31-Hemmati AA, Nazari Z, Hasanvand N, Aghel N, Mohammadian B. Protective Effect of Grape Seed Extract against the Fibrogenic Effect of Bleomycin in Rat Lung. Iran J Pharmaceut Sci 2006;2(3):143-50.
32-El-Alfy AT, Ahmed AA, Fatani AJ. Protective effect of red grape seeds proanthocyanidins against induction of diabetes by alloxan in rats. Pharmacol Res 2005;52(3):264-70.
33-Katiyar SK. Grape seed proanthocyanidines and skin cancer prevention: inhibition of oxidative stress and protection of immune system. Mol Nutr Food Res 2008;52(S1):S71-6.
34-Mokhtari M, Sarkaki A, Sharifi E, Basiryan E. Antinociceptive Effects of Grape Seed Oil with Use of Formalin Test in Male Rats. International Conference on Food Engineering and Biotechnology. Singapoore .2011.IACSIT Press, Vol.9: 48-53.

Archive of SID

www.SID.ir

The Study of Analgesic Effect of Hydroalcoholilc Extract of vitis vinifsraseedon Rat by Formalin TEST

Ardeshir Arzi [1*], Ali Asgar Hemati [1], Mohammad Moussen Mehrabi [2], Amir Siahpush [3], Zahra Nazari [4]

1-Professor of Pharmacology.
2-Pharmacist.
3-Assistant Professor of Pharmacognosy.
4-Lecturer of Toxicology.

1-Department of Pharmacology. Toxicology, School of Pharmacy Physiology Research Center Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
2- School of Pharmacy, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
3-Deparment of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Herbal Medicine & Natural Product Research Center, Ahvaz. Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
4-Department of Toxicology School of Pharmacy, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

**Corresponding author: Ardeshir Arzi; Department of Pharmacology. Toxicology, School of Pharmacy Physiology Research Center Jundishapoor University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.*
Tel: +989163190508
Email: arzi_ardeshir@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: Due to the increased role of medicinal plants in therapy, the aim of this research was to study and compare the analgesic effect of hydroalcoholic extract of the seeds of Vitis vinifera with morphine and aspirin as a common analgesic.

Subjects and Methods: In this study, the hydroalcoholic extract of Vitis vinifera seed was prepared by maceration method. This study was done on male Wistar rat species. The animals were divided into 7 groups (n= 9): Negative control group received a single dose of (5mg/kg of serum physiology), two positive control groups (one group 2.5mg/kg of morphine and another 300mg/kg of aspirin), 4 treatment groups (100,200,400and 800 mg/kg) of hydroalcoholic extract of the seeds of Vitis vinifera via intraperitoneally. In this study the analgesic effect was investigated by using formalin test.

Results: The results indicated that the analgesic effect of 400mg/kg of extract on the phase 1 of pain was more than the aspirin and less than the morphine. Its chronic analgesic effect on phase 2 of pain was less than morphine but there weren't any significant differences with those of the aspirin.

Conclusion: The results indicated that the hydroalcoholic extract of Vitis vinefera seed contains analgesic effect in both acute and chronic phases of pain. This can probably be due to the influence of the antioxidants of this extract.

Keywords:hydroalcoholilc extract,vitisvinifera, Morphine, Aspirin, Naloxone,pain, formalin, and rat.

►*Please cite this paper as:*
Arzi A, Hemati AA, Mehrabi MM, Siahpush A, Nazari Z. The Study of Analgesic Effect of Hydroalcoholilc Extract of vitis vinifsraseedon Rat by Formalin TEST. Jundishapur Sci Med J. 2013;11(6):609-618

Received: Oct 8, 2011 **Revised: Aug 5, 2012** **Accepted: Oct 22, 2012**

Archive of SID

www.SID.ir