*Medical Journal*
*of*
*Tabriz University of Medical Sciences and Health Services*

## Original Article

# Antinociceptive effect of *heracleum persicum* Leaf hydroethanolic extract in diabetic male mice

**Tayebeh Moharerizadeh[1*], Nasere Mirazi[2]**

[1]Department of Biology, School of Medicine, Islamic Azad University, Hamadan Branch, Hamadan, Iran
[2]Department of Biology, School of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran
*Corresponding author; E-mail: t.mohareri53@yahoo.com

Received: 21 April 2015 Accepted: 12 August 2015 First Published online: 11 October 2017
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2017 December; 39(5):57-64

## Abstract

**Background**: Pain is a protective sense in tissue injury time. Diabetes mellitus accompanies with undesirable neuropathic side-effects in long term. The aim of this study was to examine analgesic effects of hydroethanolic *HeracleumPersicum*L. leaf's extract (HHE) in diabetic and intact male mice.

**Methods**: 96 male mice were divided into 9 groups: control, treated by morphine, treated by HHE (100,200 and 400mg/kg,i.p.) , naloxone + HHE(200mg/kg) and STZ (60mg/kg, i.p) and STZ+ HHE(400mg/kg) randomly. To assess the antinociceptive effects of HHE, the animals were examined by tail-flick and writhing tests.

**Results:** 200 and 400 mg/kg of HHE increased pain threshold compared with control group in writhing and till flick tests ($p<0.001$). Also the effect of administration of 400 mg/kg HHE was moreanalgesic that of morphine alone ($p<0.001$). Diabetic group had low threshold to pain compared to control group.

**Conclusion:** HHE has antinociceptive and anti-diabetic effects. We suggest the analgesic effects of HHE may be due to opioid system and also it effect on prostaglandins synthesis.

**Keywords:** Heracleumpersicum, Pain, Diabetes, Streptozotocin, Mice

**How to cite this article**: Moharerizadeh T, Mirazi N. [Antinociceptive effects of heracleum persicum Leaf hydroethanolic extract in diabetic male mice]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2017 December;39(5):57-64. Persian.

© 2017 The Author(s). This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Archive of SID

www.SID.ir

مقاله پژوهشی

# اثر ضد دردی عصاره هیدرواتانولی برگ گیاه گلپر (*Heracleum persicum L.*) در موش سوری نر سالم و دیابتیک

**طیبه محرری زاده*[۱]، ناصر میرازی[۲]**

[۱]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، همدان، ایران
[۲]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا همدان، همدان، ایران
*نویسنده رابط؛ ایمیل: t.mohareri53@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۴/۲/۱  پذیرش: ۱۳۹۴/۵/۲۱  انتشار برخط: ۱۳۹۶/۷/۱۹
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز. ۱۳۹۶ آذر و دی؛ ۳۹(۵): ۵۷-۶۴

## چکیده

**زمینه:** بیماری دیابت در دراز مدت با عوارض نامطلوب نوروپاتی به خصوص در نورون‌های درد همراه می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثر ضددردی عصاره هیدرواتانولی برگ گیاه گلپر در موش‌های سوری نر سالم و دیابتیک می‌باشد.

**روش کار:** در این مطالعه تجربی از ۹۶ سر موش سوری نردر ۸ گروه کنترل (نرمال سالین)، گروه شاهد مثبت (مورفین ۱ mg/kg)، گروه‌های تیمار شده با عصاره گلپر(۴۰۰ mg/kg و ۲۰۰،۱۰۰) و گروه تیمار شده با نالوکسان (۰/۲ mg/kg) + دوز۲۰۰ mg/kgعصاره گلپر تقسیم شدند. در گروه‌های دیابتی شامل: گروه دیابتی القا شده با استرپتوزوتوسین(۶۰ mg/kg ) و دیابتیک درمان شده با دوز(۴۰۰ mg/kg) عصاره گلپر استفاده شد. به منظور ارزیابی اثر ضددردی از آزمون تیل فلیک و رایتینگ استفاده شد.

**یافته‌ها:** نشان دادکه دوز ۴۰۰ mg/kg و ۲۰۰ mg/kg عصاره گلپر، سبب افزایش آستانه درد در مقایسه با گروه کنترل در تست رایتینگ و تیل فلیک شد. گروه دیابتیک درمان شده با عصاره گلپر نیز بی دردی قابل ملاحظه ای نسبت به گروه کنترل و دیابتیک از خود نشان دادند (p<۰/۰۰۱).

**نتیجه گیری:** در پژوهش حاضر عصاره گلپر دارای خواص ضددرد و ضددیابتیک است. اثرات ضددرد ممکن است به دلیل سیستم اپیوئیدی وپروستاگلاندین سنتتاز باشد

**کلید واژه‌ها:** گیاه گلپر، درد، دیابت قندی، استرپتوزوتوسین، موش سوری

**نحوه استناد به این مقاله:** محرری زاده ط، میرازی ن. اثر ضد دردی عصاره هیدرواتانولی برگ گیاه گلپر (*Heracleum persicum* L.) در موش‌های سوری نر سالم و دیابتیک. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز. ۱۳۹۶؛ ۳۹(۵): ۵۷-۶۴

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

## مقدمه

درد حس نامطلوبی است که در اثر صدمات وارده به بافتهای مختلف در بدن انسان بوجود می آید. درد از جمله مشکلاتی است که انسان همواره با آن دست به گریبان بوده و سالهاست که تلاش می‌کند تا برای رهایی از آن چاره ای پیدا کند (۱). دیابت احتمالا سریعترین بیماری متابولیکی در حال رشد در دنیا می‌باشد (۲). آسیب سلولهای بتای لوزالمعده یا بیماریهایی که تولید انسولین را مختل میکنند، منجر به دیابت نوع یک می‌گردد و کاهش حساسیت بافتهای هدف به اثرات متابولیک انسولین که منجر به مقاومت به انسولین می‌شود از عوامل ایجاد دیابت نوع دو می‌باشد. غلظت بالای گلوکز در دراز مدت باعث آسیب بسیاری از بافتها می‌شود. درد نوروپاتی محیطی و اختلال در عملکرد سیستم اعصاب اتونوم از عوارض شایع دیابت مزمن ودرمان نشده است (۱). درد ناشی از نوروپاتی اعصاب محیطی یکی از شکایات مهم بالینی افراد مبتلا به دیابت قندی محسوب می‌شود این بیماری بسیاری از ارگانهای بدن را تحت تاثیر قرار می‌دهد، عوامل آسیب رسان بافتی در بیماری دیابت خود موجب بروز درد یا تشدید آن خواهد شد و کیفیت زندگی این بیماران را تحت تاثیر قرار می‌دهد. در این صورت تعدیل درد در این بیماران از اهمیت زیادی برخوردار است. استفاده از داروهای ضددردی شیمیایی ممکن است در بیماران سالم و دیابتی اثرات جانبی متنوع و مختلفی را ایجاد نماید. بنابراین طراحی عوامل ضددرد بسیار مطلوب است. یکی از روش‌های دستیابی به این هدف استفاده از گیاهان داروئی است (۳). این مسئله باعث شده در سالهای اخیر استفاده از گیاهان داروئی رواج بسیار زیادی یابد چون هم عوارض جانبی کمتری دارند هم مقرون به صرفه هستند، همچنین اثرات ضددردی داروهای گیاهی مختلف روی انسان و حیوان نشان داده شده است. گلپر ایرانی که از خانواده چتریان است، گیاهی علفی و چند ساله و یکی از ده گونه جنس گلپر می‌باشد که از میوه، ریشه، برگ و ساقه آن به رنگ سبز تیره بوده و سطح زیرین فاقد کرک بوده و گلها سفید است و در تابستان برداشت می‌شود. این گیاه دارای طبع گرم می‌باشد و در ایران به منزله چاشنی در تهیه ترشیجات و در طب سنتی به عنوان داروی ضد نفخ به کار می‌رود (۴). گیاه گلپر بومی ایران است و در نیمه شمالی و کوهستانی و در ارتفاعات ۱۵۰۰ متر و بالاتر رشد می‌کند. گیاه گلپر خاصیت ضدمیکروبی دارد و مشاهده شده که روغن گلپر خاصیت ضدالتهابی و بیحس کنندگی دارد (۵). عصاره این گیاه میزان ترشح اسید و پپسین معده را افزایش می‌دهد، در ریشه آن خواص بی شماری نهفته و برگهای معطر آن در چای مورد استفاده قرار می‌گیرد. میوه گلپر در درمان تشنج و بیماریهای عصبی مفید بوده و از آن در تسکین التهاب معده به عنوان مسکن استفاده می‌شود (۶). گیاه گلپر محتوی روغن‌های فرار مانند آنتول، استرهای خطی همانند: هگزیل بوتیرات، استیل استات،هگزیل ۲- متیل بوتانت و هگزیل ایزوبوتیرات می‌باشد (۷). بعلت فقدان مطالعات اختصاصی نمی توان با اطمینان ادعا نمود که در صورت وجود چنین خواصی تا چه اندازه موثرند و با توجه به اینکه در مورد خواص ضدالتهابی و ضد دردی گیاه گلپر به خصوص در بیماران دیابتی تحقیقات اندکی صورت گرفته است. براین مبنا تحقیق حاضر در پی مطالعه اثر ضددردی این گیاه در دو مدل تجربی درد شامل : تیل فلیک و رایتینگ خواهد بود تا تاثیر ضد دردی عصاره گیاه هیدرواتانولی گیاه گلپر در موش سالم ودیابتی و دوز موثرتر آن مورد ارزیابی قرار گیرد.

## روش کار

این آزمایشات در مرکز تحقیقات فیزیولوژی اعصاب دانشگاه پزشکی بوعلی سینای همدان انجام شد. تعداد ۹۶ سر موش سفید نر موچک آزمایشگاهی از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. حیوانات به طور تصادفی به گروههایی شامل: گروه کنترل (نرمال سالین)، گروه شاهد مثبت (مورفین 1mg/kgb.w)، گروه‌های تیمار شده با عصاره گلپر (۱۰۰،۲۰۰،۴۰۰mg/kg) و گروه تیمار شده با نالوکسان (۰/۲ mg/kg)+ دوز ۲۰۰ mg/kg عصاره گلپر و در گروه‌های دیابتی شامل: گروه دیابتی با استرپتوزوتوسین(۶۰ mg/kg) و دیابتی درمان شده با دوز (۴۰۰ mg/kg) عصاره گلپر تقسیم شدند. تعداد موش‌ها در هر گروه در دو آزمون تیل فلیک ورایتینگ ۶ سر می‌باشد و در شرایط استاندارد و شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با دسترسی آزادانه به آب لوله کشی و غـذای فشرده مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس) بود و شروع دوره روشنایی از ۷ صبح در شرایط دمایی (۱±۲۳ °c) انجام شد. آزمایش مورد نظر بین ساعات ۸ صبح تا ۱۲ ظهر انجام گرفت موش‌ها به مدت یک هفته در اتاق در اتاق حیوانات جهت سازش و رسیدن به وزن مناسب در قفس های پلکسی گلاس نگهداری شدند وزن موش ها در ابتدای شروع آزمایش به حدود ۵۳±۲۵ گرم رسیده و همه حیوانات فقط یکبار تحت آزمایش قرار گرفتند و بلافاصله بعد از آزمایش با دی‌متیل اتر یا کلروفرم کشته شدند. داروها و مواد شیمیایی عبارتند از سرم فیزیولوژی، استرپتوزوتوسین، مورفین، نالوکسان، اسید استیک.

مقدار ۳ کیلوگرم برگ گیاه گلپر از باغ گیاهان داروئی تهیه شده و سپس توسط کارشناس مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی مورد شناسایی قرار گرفت. نمونه مورد نظر در درجه حرارت اتاق و در سایه خشک گردید. سپس توسط آسیاب برقی خانگی به صورت پودر به وزن ۹۰۰ گرم در آمد. ۱۵۰ گرم از پودر گیاه خشک شده در یک لیتر الکل اتیلیک ۸۰ درصد به مدت یک هفته در یخچال نگهداری شد تا مواد موثره مورد نیاز استخراج شود. مخلوط حاصل توسط کاغذ صافی صاف شد و در دستگاه روتاری در

Archive of SID

www.SID.ir

دمای ۵۰–۴۸ درجه سانتی گراد قرار داده شد و سپس حلال آن جدا گردید و به مدت یک هفته دیگر در زیرهود در درون یک ظرف پتری به منظور خشک شدن قرار داده شد. این ماده به طور مشخص چرب بود.

پودر استرپتوزوتوسین محصول شرکت Sigma Aldrich آلمان در بسته‌های ۱ گرمی خریداری شد. برای تهیه استرپتوزوتوسین تزریقی باید مقدار مورد نیاز از پودر آن را در مقدار مناسب بافر سیترات سدیم ۰/۰۱ مولار حل نمود.

ابتدا استرپتوزوتوسین در بافر سیترات حل شد و به صورت داخل صفاقی و تک دوز ۶۰mg/kgb.w تزریق شد. بعد از سه روز از تزریق استرپتوزوتوسین علایم دیابت مثل پرنوشی، پرخوری پراداری مشخص شد. برای اطمینان از دیابتی بودن حیوانات، قند خون توسط دستگاه گلوکومتری (دستگاه سنجش قند) اندازه گیری شد و قند خون بالاتر از ۲۰۰ میلی گرم برد سی لیتر به عنوان موش دیابتی در نظر گرفته شد و فقط حیوانات دیابتی شده به مرحله‌ی بعد برای شروع تیمار راه یافتند.

تست رایتینگ (Writhing test) در تشخیص درد مرکزی از محیطی بسیار سودمند است و با مشاهده و شمارش مستقیم انقباضات شکمی قابل بررسی است، همچنین فعالیت ضددردی آگونیست اوپیوئیدی، پارشیال آگونیست و نمایندگان ضد التهابی را نمی‌توان بوسیله تست انقباضات شکمی شناسایی نمود (۸).

در روز آزمایش به منظور عادت دادن حیوانات به محیط، هر یک از آنها ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش در جعبه استاندارد شیشه‌ای قرار داده شدند. عصاره هیدرواتانولی برگ گیاه گلپر در مقادیر مشخصی از سرم فیزیولوژیک استریل حل و با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی تزریق گردیدند. پس ازگذشت دقیقه اسید استیک به حجم ۰/۱ میلی لیتر برکیلوگرم وزن بدن با غلظت ۰/۶٪ تزریق شد و بلافاصله پس از تزریق درون صفاقی اسید استیک، تعداد انقباضات شکمی (به گونه ای که هر دو پای موش کاملا کشیده گردد) به مدت ۳۰ دقیقه شمارش گردید در ضمن هر حیوان فقط یکبار مورد استفاده قرار گرفت (در گروه کنترل در موش‌های سالم و دیابتی نیز بعد از تزریق درون صفاقی سالین تست رایتینگ انجام شد.

آزمون تیل فلیک یکی از آزمونهای استاندارد برای اندازه‌گیری میزان هایپرآلژزیا می باشد، این آزمایش با استفاده ازدستگاه پرش دم، مدل TF-5500 ساخت شرکت برج صنعت ایران، بر اساس مدل ارائه شده قبلی انجام شد (۹). شدت نور مورد استفاده برابر با ۷ بود (درجه روی دستگاه) و از مدت زمان مرجع ۱۰ ثانیه به عنوان زمان قطعی نوردهی ( Cut off time) استفاده شد، یعنی چنانچه حیوان تا مدت ۱۰ثانیه پس از تابش نور سوزان، دم خود را نمی‌کشید به منظور جلوگیری از آسیب بافتی محرک قطع می‌شد. حیوان به صورت افقی در محفظه مخصوص نگهداری حیوانات قرار شد و زمان پس کشیدن دم در آنها ثبت شد. جهت بررسی داده‌ها از آزمون ANOVA استفاده می‌کنیم. همچنین برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه بین آزمودنی و برای مقایسات دو به دو از آزمون Tukey استفاده شد.

## یافته‌ها

جهت بدست آوردن حداکثر احتمال اثر، داده‌های حاصل از این بررسی با استفاده از فرمول $\frac{\text{زمان پاسخ اولیه- زمان تاخیر در پاسخ پس از تزریق}}{\text{زمان پاسخ اولیه-}cut\ off\ point} \times 100$ و همچنین زمان تأخیر(MPE%) در پس کشیدن دم مورد ارزیابی قرار گرفت.

در گروههای دریافت کننده‌ی عصاره‌ی گلپر دوز۲۰۰ mg/kg و ۴۰۰mg/kg نسبت به گروه کنترل، کاهش معناداری در تست Writhing مشاهده شد (نمودار ۱) ($p<۰/۰۰۰۵$).

همچنین در بررسی تست Writhing، بین گروه‌های دریافت کننده‌ی STZ و دریافت کننده‌ی عصاره‌ی گلپر دوز ۴۰۰ mg/kg + STZ اختلاف معناداری مشاهده شد. عصاره‌ی گلپردوز ۴۰۰ mg/kg + STZ منجر به کاهش معنادار در تست Writhing نسبت به گروه دریافت کننده‌ی STZ خواهد (نمودار ۲) ($p<۰/۰۰۰۵$).

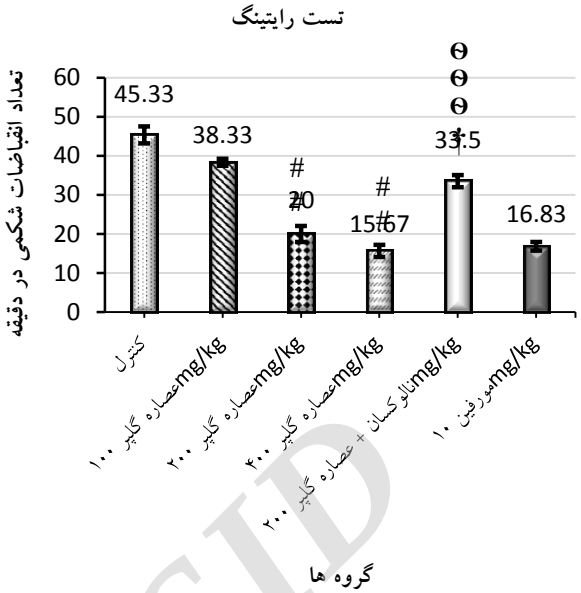
از طرفی در گروه دریافت کننده‌ی مورفین نسبت به گروه دریافت کننده‌ی عصاره‌ی گلپر دوزهای ۲۰۰mg/kg و ۴۰۰ mg/kg و ۴۰۰ mg/kg + STZ اختلاف معناداری در تست Writhing مشاهده نشد در حالی که دریافت عصاره‌ی گلپر دوز ۲۰۰ mg/kg + نالوکسان منجر به افزایش در تست Writhing نسبت به گروه دریافت کننده‌ی عصاره‌ی گلپردوز ۲۰۰ mg/kg خواهد شد (نمودار ۱).

مقایسه زمان پرش دم نسبت به محرک دردزا در بین گروه‌های مورد آزمایش نسبت به مرحله بعد از تزریق در همان گروه نشان داد که تزریق دوزهای ۲۰۰ mg/kg و ۴۰۰ mg/kg عصاره گلپر سبب افزایش معناداری در زمان تست پرش دم (Tail Flick) نسبت به محرک دردزا شد (نمودار ۳).

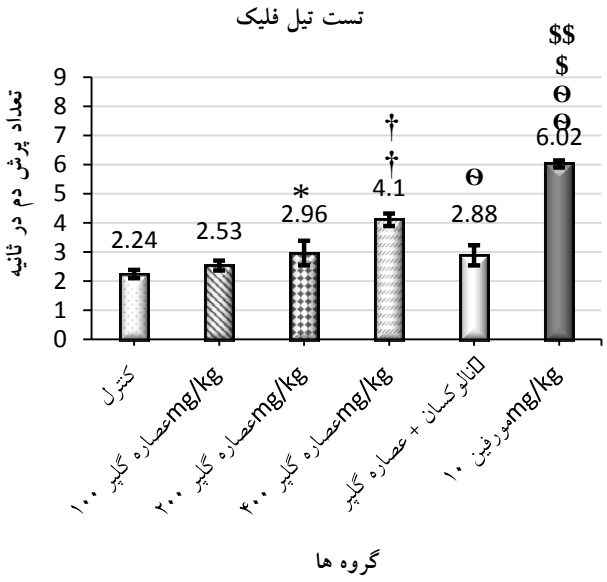
همچنین در گروه دریافت کننده‌ی عصاره‌ی گلپر دوز ۴۰۰mg/kg + STZ، در زمان تست پرش دم بعد از آزمایش نسبت به قبل از آزمایش اختلاف معناداری مشاهده شد دریافت عصاره‌ی گلپردوز ۴۰۰mg/kg+ STZ منجر به افزایش در زمان تست پرش دم بعد از آزمایش نسبت به قبل از آزمایش از طرفی بین گروه دریافت کننده مورفین نسبت به گروه دریافت کننده‌ی شد ($p<۰/۰۰۱$). عصاره‌ی گلپر دوزهای ۲۰۰ mg/kg و ۴۰۰ mg/kg نیز، با اطمینان ۹۵٪ افزایش معناداری در زمان تست پرش دم بعد از آزمایش مشاهده شد ($p<۰/۰۰۰۵$).

Archive of SID

www.SID.ir

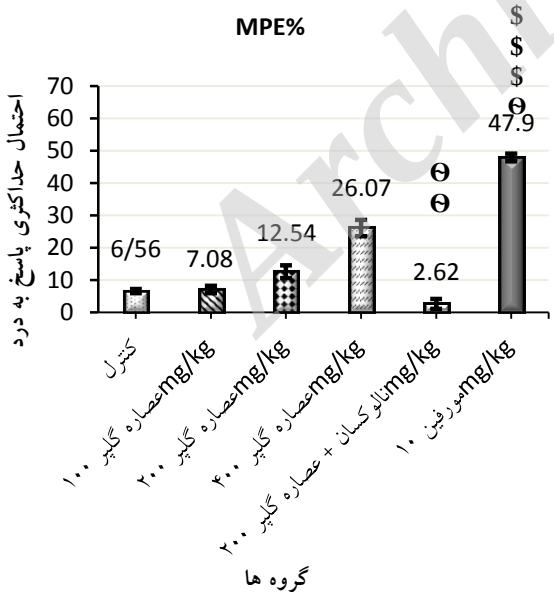



**نمودار۱:** مقایسه‌ی تست Writhing در گروه‌های دریافت کننده‌ی نرمال سالین (کنترل)، عصاره‌ی گلپر ۱۰۰mg/kg، ۲۰۰mg/kg، ۴۰۰mg/kg، عصاره‌ی گلپر ۲۰۰mg/kg + نالوکسان و مورفین در موش‌های سوری نر.* بیانگر معناداری نسبت به گروه کنترل، # بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده‌ی عصاره‌ی گلپر ۱۰۰mg/kg، † بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده‌ی عصاره‌ی گلپر۲۰۰mg/kg، Θ بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده‌ی عصاره‌ی گلپر۴۰۰mg/kg و$ بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده‌ی
عصاره‌ی گلپر ۲۰۰mg/kg + نالوکسان است. (***:P<0.001, **:P<0.01)، (#:P<0.05, ###:P<0.001)، (†††:P<0.001)، (ΘΘΘ:P<0.001)، ($$$:P<0.001)




**نمودار۲:** مقایسه‌ی تست Tail flick در گروه‌های دریافت کننده‌ی نرمال سالین (کنترل)، STZ و عصاره‌ی گلپر ۴۰۰mg/kg + STZ بعد از آزمایش در موش‌های سوری نر

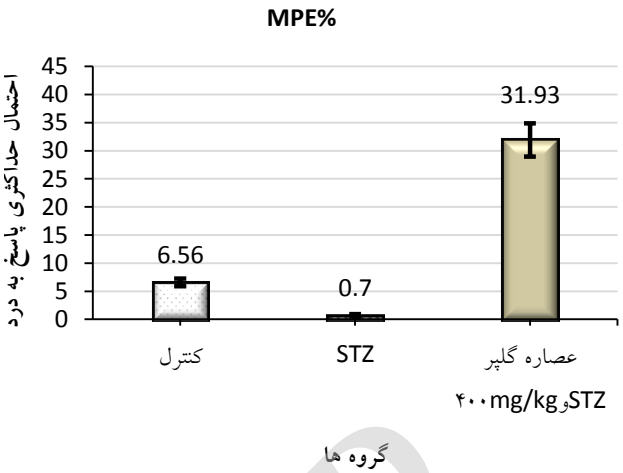
و در مقابل در گروه دریافت کننده‌ی عصاره‌ی گلپر دوز ۴۰۰mg/kg + STZ نسبت به گروه دریافت کننده‌ی مورفین، کاهش معناداری در زمان تست پرش دم بعد از آزمایش مشاهده شد (نمودار ۲) (p<۰/۰۰۰۵). در بررسی تست پرش دم بعد از آزمایش، در گروه دریافت کننده‌ی عصاره‌ی گلپر ۲۰۰mg/kg + نالوکسان نسبت به گروه دریافت کننده‌ی عصاره‌ی گلپر mg/kg ۲۰۰، اختلاف معناداری مشاهده نشد. در بررسی احتمال حداکثری پاسخ به درد(MPE%) بین گروه‌های دریافت کننده‌ی عصاره‌ی گلپر دوز ۱۰۰mg/kg و دریافت کننده‌ی عصاره‌ی گلپر mg/kgدوز۴۰۰ و ۲۰۰ mg/kg اختلاف معناداری مشاهده شد (p<۰/۰۰۱). دریافت عصاره‌ی گلپر ۴۰۰mg/kg و۲۰۰ منجر به افزایش احتمال حداکثری پاسخ به درد نسبت به گروه دریافت کننده‌ی عصاره‌ی گلپر ۱۰۰mg/kg خواهد شد (نمودار ۳). طبق نتایج مندرج در جدول و نمودار فوق در گروه دریافت کننده‌ی STZ نسبت به گروه کنترل، با توجه به اینکه P=۰/۰۴۵<α=۰/۰۵ شده است، با اطمینان ۹۵٪ کاهش معناداری در احتمال حداکثری پاسخ به درد مشاهده شد. در بررسی احتمال حداکثری پاسخ به درد، بین گروه‌های کنترل، دریافت کننده‌ی STZ+ عصاره‌ی گلپر ۴۰۰mg/kg، اختلاف معناداری مشاهده شد (p<۰/۰۰۱). دریافت STZ+ عصاره‌ی گلپر ۴۰۰mg/kg منجر به افزایش احتمال حداکثری پاسخ به درد نسبت به گروه کنترل خواهد شد. همچنین در گروه دریافت کننده‌ی STZ+ عصاره‌ی گلپر ۴۰۰mg/kg نسبت به گروه دریافت کننده‌ی STZ، افزایش معناداری در احتمال حداکثری پاسخ به درد مشاهده شد) (p<۰/۰۰۱) **(نمودار ۴)**




**نمودار ۳:** مقایسه یاحتمال حداکثری پاسخ به درد (MPE%) در گروه‌های دریافت کننده‌ی نرمال سالین (کنترل)، عصاره‌ی گلپر ۱۰۰mg/kg، ۲۰۰mg/kg، ۴۰۰mg/kg، عصاره‌ی گلپر ۲۰۰mg/kg + نالوکسان و مورفین، در موش‌های سوری نر

Archive of SID

www.SID.ir




**نمودار ۴:** مقایسه‌ی احتمال حداکثری پاسخ به درد (MPE%) در گروه‌های دریافت کننده‌ی نرمال سالین (کنترل)، STZ و عصاره‌ی گلپر ۴۰۰mg/kg + STZ، در موش‌های سورینر.* بیانگر معناداری نسبت به گروه کنترل، و # بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده‌ی STZ است. (*:P<0.05, ***:P<0.001) ، (###:P<0.001)

## بحث

در این پژوهش مشخص شد که در بررسی تست پرش دم و انقباضات شکمی بعد از آزمایش، بین گروه‌های کنترل و دریافت کننده‌ی عصاره‌ی گلپردوزهای۲۰۰ mg/kg و ۴۰۰ mg/kg اختلاف معناداری مشاهده شد.

آزمون‌های حرارتی مثل تیل فلیک در مکانیسم‌های مرکزی دخالت دارند و تست تیل فلیک برای بررسی اثرات ضد دردی مرکزی داروها و ترکیبات شیمیایی استفاده می شود در واقع این تست به داروهایی حساس است که روی سیستم عصبی مرکزی عمل می کنند (۱۰).

ایجاد انقباضات شکمی ناشی از تجویز درون صفاقی اسیداستیک به عنوان یکی از تست های استاندارد جهت بررسی اثر داروهای جدید در درمان دردهای احشایی مورد استفاده قرار می‌گیرد و تست رایتینگ بـه منظـور ارزیـابی فعالیت ضد دردی محیطی استفاده می‌گردد (۱۱). لذا در این پژوهش نیز احتمال دخالت مکانیسم‌های مرکزی و محیطی کنترل درد، در اثرات ضددردی عصاره گلپر مطرح می‌شود . مطالعات قبلی اثرات ضد التهابی و ضددردی گیاه گلپر را به اثبات رسانده اند (۵).

مطالعات قبلی نشان داده برخی گیاهان تیره چتریان از جمله جعفری و کرفس حاوی ترکیباتی از جمله فلاونوئیدها، تانن هـا و ترپنوئیـدها می باشند که می توان خصوصیات ضددردی این گیاهان را به این ترکیبات شیمیایی نسبت داد (۱۳و۱۲).

شش نوع فورانوکومارین و فلاونوئید در گیاه گلپر وجود دارد (۱۴). از این رو می توان اثر ضددردی عصاره گلپر را که از گیاهان خانواده چتریان است نیز به این ترکیبات نسبت داد.

نالوکسان از اثر داروهای ضددردی مانند مورفین جلوگیری کرده و حتی از القای بی دردی پیشگیری می‌نماید (۱۵). در این پژوهش تزریق نالوکسان در تست تیل فلیک تاثیری براثر ضددردی عصاره گلپر دوز ۲۰۰ mg/kg نداشت اما تزریق نالوکسان در تست ریتینگ اثر ضددردی عصاره دوز ۲۰۰ mg/kg را کاهش داد. لذا نتیجه نشان می‌دهد که عصاره گیاه گلپر حداقل بخشی از اثرات خود را از طریق گیرنده اوپیوئیدی اعمال نموده و بخش دیگر را از طریق سیستم سیکلواکسیژناز اعمال می‌کند و احتمالا ناشی از تاثیر برفرایندهای التهابی است. به نظر می رسد عصاره گیاه گلپر با تأثیر بر سیستم اعصاب مرکزی و محیطی می کند اثر ضددردی خود را اعمال می‌کند. تحقیقات قبلی نشان داده اندام‌های مختلف گیاه گلپردارای مواد مؤثره فراوان از جمله انواع کومارین‌ها و گزانتوتوکسین است و همچنین گلپر حاوی مواد فورانوکومارین و فلانوئید می‌باشد (۱۶). احتمالا وجود آلکالوئیدهای موجود در عصاره گیاه گلپر منجر به اثرات ضد باکتریایی این گیاه شده است (۱۷). مطالعات قبلی نشان داده اند که عـصاره هـای آلکالوئیـدی حداقل در قسمتی از سیستم های تسکینی مخدری نقـش دارند (۱۸). یکی از ترکیبات فراوان در گیاهان بـا خاصـیت ضـددردی فلاونوئیدها هستند. فلاونوئیـد هـا ترکیبـات پلـی فنـل طبیعـی موجود در گیاهان می باشند که دارای خواص ضد دردی ضدالتهابی هستند (۱۹). فلاونوئیدها با مهار سیکلواکسیژناز در بافت ملتهب، مانع از تشکیل پروستاگلندین‌هـا مـی شـوند. پروسـتاگلندین هـا سـبب تحریک رسپتورهای درد می‌شـوند. گیاهـان حـاوی فلاونوئیـد بسیاری از آثار خود را بـا مهـار آنـزیم سیکلواکسـیژناز اعمـال می‌کنند و انقباضات شکمی نیز وابسته به حساسیت گیرنده‌هـای درد ترکیباتی از جمله پروستاگلندین است (۲۰).

به نظر می‌رسد که اثرات ضد دردی محیطی عصاره‌ی گلپر به طور غیرمستقیم بـه وسـیله مـدیاتورهای داخلـی نظیـر بـرادی کینـین، سـرتونین، ماده P هیستامین و پروستاگلاندین‌ها ایجاد شـده باشـد، چرا که همه این مدیاتورها با تحریک نورون هـای دردزای محیطی در ارتبـاط مـی باشـند (۲۱). همچنین در پژوهشی توسط Hajhashemi و همکاران اثرات ضددردی و ضد التهابی گلپر انجام گرفت در مرحله دوم ازمون فرمالین مشخص شد که نتایج این پژوهش با تحقیق کنونی مطابقت دارد و اثرات ضددردی و ضدالتهابی این گیاه به ترکیبات شیمیایی موجود در آن نسبت داده شده است (۵). پژوهش‌های قبلی مشخص نموده که فلاونوئیدها، گلیکوپروتئین‌ها، پلی پپتیدها، استروئیدها، آلکالوئیدها و پکتین موجود در گیاهان داروئی می تواند خاصیت هیپوگلیسمیک وهیپولیپیدمیک برخی گیاهان داروئی موثر در درمان دیابت از جمله برگ چغندر را از نظر جلوگیری از تغییرات بیوشیمیائی خون به خوبی توجیه کند (۲۲). لذا این مواد نیز می

Archive of SID

www.SID.ir

توانند خاصیت هیپوگلیسمیک ودر نتیجه اثر کاهش دهندگی درد را در موش‌های دیابتی توسط این گیاه توجیه کند، در این رابطه احتمال داده می شـود کـه فورانوکومارین موجود در گیاه گلپر مـؤثرترین مـاده در ایـن خـصوص باشد (۲۳). نتیجه آزمایش‌های ما با نتایج آزمایش‌های برادلی و کورتیکس که نشان دادند دیابت ناشی از استرپتوزوسین منجر به افزایش درد به خصوص دردهای التهابی و همچنین افزایش فعالیت انتهاهای عصبی درد به دنبال دیابت می‌گردد، مشابه می‌باشد (۲۵و۲۴). اگرچه نتایجی متفاوت، مانند گزارش کاهش هدایت عصبی و کاهش درد به دنبال دیابت قندی هم گزارش شده است (۲۶). در کل نتایج ما با اکثر نتایج هم راستا بوده و نشان از یک هیپرآلژزیا در دردهای نوع حاد و مزمن دارد. همانطور که پیشتر گفته شد با توجه به اینکه ایجاد دردهای فازیک مثل صفحه داغ یا رفلکس عقب کشیدن دم بیشتر از طریق مکانیزم مرکزی عمل می‌کنند (۲۷). بنابراین نتایج کاهش درد در آزمون تست تیل فلیک تاییدی بر عملکرد اثر عصاره گلپر از طریق مکانیزم مرکزی در کاهش هیپرآلژزی دیابتی می باشد. همچنین تاثیر عصاره گیاه گلپر در کاهش درد ناشی از تزریق اسید استیک (Writhing test) نشان می دهد که این عصاره از طریق محیطی یعنی تعدیل واسطه‌های محیطی ایجاد کننده درد قادر به کاهش هیپرآلژزیای دیابتی ی‌باشد، همچنین با توجه به گزارش‌های ارایه شده در مورد تقویت اثر سیستم اوپیوییدی به وسیله آلکالوییدها می‌توان نتیجه گرفت احتمالا ترکیبات عصاره برگ گیاه گلپر قادر است از طریق مکانیزم مرکزی و با تداخل با سیستم اوپیوییدی میزان درد افزایش یافته در اثر دیابت را کاهش دهد (۲۸). طی پژوهش‌های قبلی مشخص شد که گیاه گونه آنیسوم به دلیل در صد بالای ترانس آنتول در آن دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بالائی می‌باشد (۲۹). لذا باتوجه به اینکه در گیاه گلپر نیز میزان ترانس آنتول (۸۲/۸٪) می‌باشد (۳۰)، احتمالا خواص ضددردی و ضددیابتی گیاه گلپر را می‌توان به وجود این ماده نسبت داد. جهت تعیین تاثیر این ماده نیاز به پژوهش بیشتری می‌باشد، همچنین به نظر می رسد استروئید ها و به خصوص فلاونوئید ها و آلکالوئیدهای موجود در عصاره این گیاه با مهـار سیکلواکـسیژناز در بافت ملتهب مـانع از تـشکیل پروسـتاگلاندین هـا می شوند (۱۰).

## نتیجه گیری

عصاره هیدرواتانولی گیاه گلپر، در دو تست تیل فلیک و رایتینگ دارای خـــواص ضـــد دردی و ضد دیابتی اســـت و وابسته به دوز بوده و در دوز ۴۰۰ بیشترین اثر ضددردی را دارد. همچنین عصاره این گیاه احتمالا در مراحل اولیه القاء دیابت، قبل از تخریب نورونی و ایجاد نوروپاتی دیابتی می‌تواند روند تخریب نورونی ناشی از دیابت را کاهش دهد و آستانه پاسخ به درد را در نوروپاتی دیابتی نیز کاهش می دهد. به نظر میرسد ترکیبات موجـود در این گیاه به ویژه فلاونوئیـدها و الکالوئیدهای موجـود در عـصاره هیدرواتانولی گلپر بـا فعال کردن مـسیرهای عـصبی متعـددی سـبب کـاهش درد و التهـــاب و نوروپاتی دیابتی مـــی شـــوند کـــه بـــه پـــژوهش هـــای بیشتری دارد.

## قدردانی

بدین وسیله از زحمات بی پایان آقای دکتر میرازی وآقای دکتر صریحی و همکاری صمیمانه آقای دکتر کمکی و پرسنل محترم آزمایشگاه فیزیولوژی اعصاب دانشگاه بوعلی سینای همدان صمیمانه سپاسگزارم.

## References


1. Guyton A, Hall J. Textbook of Medical Physiology. translating by F. Shadan, Iran: publishing Chehr, 2006; PP: 903-1028.
2. ADA Group (American ADA Group (American Diabetes Association) Clinical practice recommendation. screening for diabetes. *Diabetes Care* 1997; **20**: 22-24. doi: 10.2337/diacare.20.1.S22
3. Guimaraesag Q, Quintan J. Monoterpenes with Analgesic Activity-systemic review. *Phytother Res* 2013; **27**(1): 1-15. doi: 10.1002/ptr.4686
4. Zargari A. *Pharmaceutical plant*. 2nd ed. Tehran, Tehran University Press, 1996; PP: 619-625. Persian.
5. Hajhashemi V, Sajjadi S.E, Heshmati M. Anti-inflammatory and analgesic properties of Heracleum premium essential oil and hydroalcoholic extract in animal models. *J Ethnopharmacol* 2009; **124**: 475-480. doi: 10.1016/j.jep.2009.05.012
6. Shahrani M, Nabavizadeh F, Shirzadeh H, Yousefi H. Effect of Heracleum premium extract on acid and pepsin secretion level in both basic and stimulated conditions with Penta gastrin in rat 2006; **7**(4): 35-41.
7. Sefidkon F, Dabiri M, Mohammad N. Analysis of the oil of Heracleum persicum L, (leaves and flowers). *J Essential Oil Research* 2002; **14**(4): 295-230. doi: 10.1080/10412905.2002.9699860
8. Vogel HG. Skin Sensitization Testing. *Drug discovery and evolution Pharmacol Assays* 1997; **14**: 402-403. doi: 10.1007/978-3-642-27728-3_94-1
9. D'Amour FE, Smith DL. A method of deter- mining loss of pain sensation. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; **27**: 74-77.
10. Carlisson KH, Jurna I. Depression by flupirtine; a novel analgesic agent of motor and sensory response of nociceptive system in the rat spinal cord. *Eur J*


Archive of SID

www.SID.ir

*Pharmacol* 1987; **143**: 87-99. doi: 10.1016/0014-2999(87)90738-2
11. Gene RM, Segura L, Adzet T, Marin E, Ingle- sias J. Heterotheca inuloides: anti-inflammatory and analgesic effects. *J Ethnopharmacol* 1998; **60**: 157-162. doi: 10.1016/S0378-8741(97)00155-4
12. Hmamouchi M. Les plantes medicinales et aromatiques marocaines. *Rabat* 1999; **92**: 174-175.
13. Lin L, Lu S, Harnly J. Detection and quantification of glycosylated flavonoid malonates in celery, Chinese celery, and celery seed by LC-DAD-ESI/MS. *J Agric Food Chem* 2007; **55**(4): 1321-1326. doi: 10.1021/jf0624796
14. Merijanian A, Colasurdo T, Samtak P, Ullrich J, Spagnuolo J. The furanocomarins of Heracleum persicum L. Rev Latinoam Quim 1980; **11**: 51-53.
15. Mohebali SH, Nasri S, Kamalinejad M. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of Berberis vulgaris L, roots hydroalcoholic extract and determination of its possible antinociceptive mechanism in male mice. *Journal of Paramedical Sciences* 2011; **2**: 4978-4979.
16. Aynehchi Y, Aliabadi Z, Salehi-Surmaghi M.H. Furanocoumarines in roots of Heracleum persicum. *Acta Horticult* 1978; **73**: 103-107.
17. Debella A. Manual for phytochemical screening of medicinal plants. *Ethiop Health Nutr Res Inst* 2002; **84**: 33-37.
18. Farouk L, Laroubi A, Aboufatima R, Benharref A, Chait A. Evaluation of the analgesic effect of alkaloid extract of Peganum harmala L, Possi- ble mechanisms involved. *J Ethnopharmacol* 2008; **115**: 449-454.
19. Hoodgar F, Nasri S, Amin Gh. Investigation of Ant nociceptive and Anti-inflammatory Effects of Hydro-alcoholic Extract of Securigera Securidaca L. Ofogh-e-Danesh; *Journal of Gonabad University of Medical Sciences* 2011; **17**(2): 12-20.
20. Eidi A, Eidi M, Mazooji A, Mortezaie S. Antinociceptive effects of ethanoic extracts of Salvia sclera L. aerial parts in mice. *Journal of Sciences (Islamic Azad University)* 2011; **20**(78/1): 61-70.
21. Collier HOJ, Dinneen LC, Johnson CA, Schneider C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *Br J Pharmacol* 1968; **32**: 295-310.
22. Tomoda M, Shimada K, Konno C, Hikini H. Structure of Panaxan B: a hypoglycemic glycan of Panax ginseng roots. *Photochemistry* 1985; **24**: 2431-2433. doi: 10.1016/S0031-9422(00)83057-5
23. Souri E, Farsam H, Sarkheil P, Ebadi F. Antioxidant activity of some furanocoumarins isolated from heracleum persicum. *Pharmaceut Biol (Formerly International Journal of Pharmacognosy)* 2004; **42**(6): 396-399. doi: 10.1080/13880200490885077
24. Bradley S, Ann Gi, Mark P. Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description, and quality of life. *Diabetic research and clinical practice* 2000; **47**: 123-128. doi: 10.1016/S0168-8227(99)00112-6
25. Courteix C, Eschalier A, Lavarenne J. Streptozocin-induced diabetic rats: behavioral evidence for a model of chronic pain. *Pain* 1993; **53**: 81-88. doi: 10.1016/0304-3959(93)90059-X
26. Richard J, Peter L, Daniel R, Reto M. Prevention of nerve conduction deficit in diabetic rats by polyunsaturated fatty acids. *American Journal of Clinical Nutrition* 2000; **71**: 386-392.
27. Xu G, Duanmu Z, Yin Q, The role of Ach in the central nerve system on pain modulation and analgesia. *Zhenci Yan Jiu* 1993; **18**: 1-5.
28. Tekol Y, Eminel S, Combination use of tertiary amine para sympathomimetic with a quaternary amine para sympatholytic: a new perspective to use para sympathomimetic drug for systemic analgesia. *Pharmazie* 2002; **57**: 485-486.
29. Salehi Atay A, Esmaelzadeh Kenari R, Nasiri T. The antioxidant function of essential oils and plant extracts Anarryjh and Applications, Second Seminar on Food Security, 2013: 27-45.
30. Tkachenko KG. Constituents of essential oils from fruit of some Heracleum L Species. *J Essential Oil Research* 1993; **5**(6): 687-689.

Archive of SID

www.SID.ir