مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره هجدهم، شماره ۵، اردیبهشت ۱۳۹۵، صفحه ۳۷-۳۱

اثر ضد دردی عصاره هیدروالکلی گیاه خوشاریزه در موش صحرایی نر

مهتاب عسگری نعمتیان (PhD)[۱]، سعید محمدی (PhD)[۲*]

۱- گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور تهران
۲- گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان

دریافت: ۹۴/۸/۲۳، اصلاح: ۹۴/۱۰/۱۶، پذیرش: ۹۴/۱۲/۱۲

خلاصه

سابقه و هدف: استفاده از گیاهان دارویی به منظور درمان درد و التهاب در طب سنتی ایران نوعی رسم و عادت می باشد. گیاه خوشاریزه یکی از مهمترین گیاهان دارویی است که تاکنون اثرات ضد سرطانی، ضد میکروبی و ضد قارچی آن به اثبات رسیده است. هدف از این مطالعه بررسی اثر ضددردی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه خوشاریزه در موش صحرایی نر می باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی از ۴۲ سر موش صحرایی نر در ۶ گروه شامل گروه‌های: کنترل، گروه‌های تیمار شده با عصاره (۱۰۰،۳۰۰ و ۸۰ میلی گرم بر کیلو گرم درون صفاقی)، مورفین (۱میلی گرم بر کیلو گرم درون صفاقی) و نیز نالوکسان (۱میلی گرم بر کیلو گرم) بهمراه دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره استفاده شد. به‌منظور ارزیابی اثرات ضددردی عصاره از آزمون‌های ریتینگ، تیل فلیک و فرمالین استفاده شد.

یافته‌ها: در تست ریتینگ دوزهای۱۰۰ و۳۰۰ mg/kg عصاره توانستند تعداد ریتینگ را از ۴۳/۲۲±۳/۶۱ واحد در گروه کنترل به ترتیب به ۲۷/۳۱±۲/۳۴(p<۰/۰۵) و ۲۹/۶۷±۰/۹۱(p<۰/۰۱) واحد کاهش دهند. در تست تیل فلیک نیز تزریق دوز ۳۰۰ mg/kg عصاره توانست پاسخ تاخیری پرش دم را از ۲/۸۴±۰/۷۶ ثانیه در گروه کنترل به ۵/۵۲±۱/۸۸ ثانیه برساند (p<۰/۰۵). در تست فرمالین نیز دوز ۳۰۰ mg/kg عصاره توانست در هر دو فاز حاد و مزمن، امتیاز درد را از۲/۱۸±۰/۲۲ در گروه کنترل به ۰/۷۴±۰/۱۳ کاهش دهد (p<۰/۰۱).

نتیجه گیری: بر اساس نتایج این مطالعه، عصاره هیدروالکلی برگ گیاه خوشاریزه دارای اثرات ضد دردی مرکزی و محیطی می باشد.

واژه‌های کلیدی: عصاره هیدروالکلی، ضد درد، خوشاریزه، گیاهان دارویی.

مقدمه

درد یکی از مشکلات اصلی و اساسی در جوامع امروزی بوده و علی‌رغم آن که هشداری برای آسیب‌های بافتی است اما وجود درد احساس ناخوشایندی است که انسان را وادار می‌کند برای مقابله با آن از روش‌های مختلف درمانی استفاده نماید (۱). در گزارش انجمن درد آمریکا، حدود پنجاه میلیون نفر در آمریکا در سنین مختلف از درد رنج می‌برند که کنترل آن نیازمند بیش از ۲۵ میلیون دلار هزینه می‌باشد. امروزه برای کنترل درد بیشتر از داروهای ضدالتهاب غیر استروئیدی و یا داروهای اوپیوئیدی استفاده می‌شود. اما این داروها دارای عوارض جانبی نسبتا زیادی بوده و با بروز اختلالات در دستگاه گوارش، آسیب‌های کلیوی و یا با وابستگی همراه هستند که در مجموع باعث شده که انسان به دنبال داروهای جدیدتری باشد تا علاوه بر داشتن عوارض جانبی کمتر، ارزان و در دسترس هم باشند (۲). گیاهان دارویی منبع مهمی از مواد شیمیایی جدید، با اثرات درمانی بسیار قوی می باشند (۳). استفاده از گیاهان دارویی به منظور درمان درد و التهاب در طب سنتی ایران نوعی رسم و عادت می باشد حال آنکه در بیشتر موارد منشا و اساس فعالیت این گیاهان ناشناخته مانده است. لیکن ارزیابی اثرات داروشناسی عصاره خالص این گیاهان می تواند به عنوان یک راهبرد پژوهشی منطقی به منظور یافتن داروهای جدید باشد (۴و۵). جنس Echinophora نماینده ای از فلور گیاهان ایرانی است(۶). چهار گونه از آن که شامل: E. sibthorpiana, E. cinerea, orientalis, و E. platyloba می باشد، بومی ایران است (۷). Echinophora Platyloba D.C، عضوی از خانواده Umbelliferae یک گیاه دائمی است که در مناطق مدیترانه ای و همچنین در استانهای مرکزی و غربی ایران یافت می شود (۸). ریزوم زیرزمینی آن رشد وسیعی داشته و ساقه عمودی آن پر از شاخه می باشد. انتهای برگ‌های آن خاردار است و شکوفه آن از خرداد تا شهریور ماه می روید. در ایران بخش های هوایی تازه و خشک شده برخی از این گونه ها به عنوان چاشنی به پنیر و ماست اضافه می شود. همچنین گونه های مربوط به جنس Echinophora در پزشکی سنتی به منظور بهبود زخم و درمان زخم معده به سبب ویژگی ضد قارچی، ضد نفخ (۹) و به عنوان محرک معده استفاده شده و نیز فعالیت ضد میکروبی و ضد سرطانی آن اخیرا نشان داده شده است (۱۰). این گیاه همچنین دارای اثر

▣ این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۱/۳۱/۱۱۰۵۷ دانشگاه پیام نور تهران می‌باشد.
* مسئول مقاله: دکتر سعید محمدی
آدرس: همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست شناسی. تلفن: ۰۸۱-۱۲۵۱۸۰۶۴
E-mail: smiauhphd.sm@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

محافظتی از کبد در برابر سمیت حاصل از استامینوفن است (۱۱). از جمله ترکیبات شیمیایی مهم این گیاه نیز می توان به فلاونوئیدها، آلکالوئیدها اشاره نمود (۱۲و۶). در سال‌های اخیر اثرات ضد دردی گیاهان دارویی مختلفی از جمله: Tribulus terrestris(۱۳)، Alliuml hirtifolium (۱۴)، Pimpinella anisum(۱۵) و Bryonia dioica (۱۶) با استفاده از تستهای استاندارد تیل فلیک، ریتینگ و فرمالین به اثبات رسیده است. با توجه به اینکه تاکنون گزارشی در ارتباط با بررسی اثرات ضد دردی عصاره هیدروالکلی گیاه خوشاریزه با استفاده از روش های نوین تجربی در منابع مختلفی که مورد جست و جو قرار گرفت ارائه نشده است و نیز با توجه به اینکه ترکیبات ضد دردی رایجی چون مورفین از گیاهان دارویی مشتق شدند (۱۷) و از آنجائیکه خوشاریزه در طب سنتی در درمان بیماری های مختلفی استفاده می شود(۹) احتمالا این گیاه می تواند اثر ضد دردی نیز داشته باشد. بنابراین در این آزمایش تجربی اثر ضد دردی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه خوشاریزه با استفاده از تستهای فرمالین، ریتینگ و تیل فلیک مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

آماده سازی عصاره: در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی مقدار ۲ کیلوگرم برگ تازه گیاه خوشاریزه در مرداد ماه سال ۱۳۹۴ تهیه و سپس توسط گیاه شناس دانشگاه بوعلی سینا همدان مورد تایید قرار گرفت. پس از جداسازی دمبرگ ها، برگ های خوشاریزه در دمای اتاق (۲۵ درجه) و در سایه خشک گردید. سپس توسط آسیاب مکانیکی به صورت پودر خشک در آمد. مقدار ۲۰۰ گرم از پودر برگ خشک شده گیاه را در یک لیتر متانول۸۰ درصد به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شد، تا مواد موثره مورد نیاز استخراج شود. مخلوط حاصل پس از صاف شدن در دستگاه روتاری قرار داده شد و حلّال آن جدا گردید و به مدت یک هفته دیگر در زیر هود در درون یک ظرف پتری به منظور خشک شدن قرار داده شد. پس از گذشت یک هفته، از آنچه در ته ظرف باقی مانده بود (عصاره گیاه)، به منظور تیمار رتهای نر با دوزهای مختلف عصاره در مقدار مناسب سرم فیزیولوژی (کلرو سدیم ۰/۹ درصد) حل شد.

حیوانات: ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (۲۵۰-۲۲۰ گرم) از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند و در شرایط استاندارد اتاق حیوانات تحت دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی: ۱۲ ساعت تاریکی (شروع دوره روشنایی از ساعت۷:۰۰ صبح)، شرایط دمایی ۱±۲۲ درجه سانتی گراد) و رطوبت نسبی ۵۵-۵۰ درصد نگهداری شدند. حیوانات با دسترسی آزاد به آب و غذای مخصوص در قفس های فلزی نگه داری شدند. حیوانات حداقل ۲ ساعت قبل از انجام آزمایش به شرایط آزمایشگاه عادت داده شدند. آزمایش مورد نظر بین ساعات ۸:۰۰ صبح تا ۱۲:۰۰ ظهر انجام شد. آزمایشات بر طبق دستورالعمل های اخلاقی انجمن بین المللی مطالعه درد در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام شد (۱۸). حیوانات در ۷ گروه ۶ تایی شامل: گروه کنترل (تحت اثر نرمال سالین)، گروه تحت اثر مرفین (۱میلی گرم بر کیلو گرم)، گروه تحت اثر آسپیرین (۱میلی گرم بر کیلو گرم)، گروه‌های تیمار شده با دوزهای کم، متوسط و زیاد گیاه خوشاریزه (به ترتیب به مقدار ۸۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ mg/kg) و گروه تیمار شده با نالوکسان (۱ mg/kg) به همراه دوز متوسط عصاره (۱۰۰mg/kg) تقسیم شدند.

آزمون های درد:

تست ریتینگ: تست ریتینگ عموما به منظور ارزیابی ترکیباتی که دارای فعالیت ضددردی محیطی می‌باشند استفاده می‌شود. تست ریتینگ در تشخیص درد مرکزی از محیطی بسیار سودمند است (۱۹). در روز آزمایش به منظور عادت کردن حیوانات به محیط، هریک از آنها ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش در جعبه استاندارد شیشه‌ای مذکور قرار داده شدند. ابتدا سرم فیزیولوژیک، عصاره هیدروالکلی برگ گیاه مذکور حل شده در سرم فیزیولوژیک استریل با دوزهای ۱۸، ۳۸ و ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون‌صفاقی تزریق گردید. پس از گذشت ۱۵ دقیقه اسید استیک به حجم ۰/۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن با غلظت ۱٪ تزریق شد و ۵ دقیقه پس از تزریق درون صفاقی اسید استیک تعداد انقباضات شکمی (به گونه ای که هر دو پای موش کاملا کشیده گردد) شمارش گردید. هر حیوان فقط یکبار مورد استفاده قرار گرفت (۲۰). در گروه کنترل نیز بعد از تزریق سالین به صورت درون صفاقی، تست انجام شد. اگر تعداد پیچ و تاب خوردن شکم مساوی یا کمتر از نصف تعداد متوسط در گروه کنترل باشد، پس عصاره گیاه گل ختمی در کاهش درد موثر بوده است.

تست تیل فلیک: این تست به منظور بررسی اثرات ضددردی مرکزی داروها و ترکیبات شیمیایی استفاده می‌شود. در واقع این تست به داروهایی حساس است که روی سیستم عصبی مرکزی عمل می‌کنند (۲۱). این آزمایش با استفاده از دستگاه پرش‌دم، مدل TF-5380 ساخت شرکت برج صنعت ایران انجام گرفت. آزمون بر اساس مدل ارائه شده قبلی انجام شد (۲۲). شدت نور مورد استفاده برابر با ۷ بود و از مدت زمان مرجع ۱۰ ثانیه به عنوان زمان قطعی نوردهی (Cut of time) استفاده شد. یعنی چنانچه حیوان تا مدت ۱۰ ثانیه 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 حیوان قرار گرفت و دم آن آزاد بود. مدت زمان تاخیر در کشیدن دم در سه مرتبه و به فاصله دو دقیقه قبل از تزریق دارو یا عصاره اندازه گیری شد و میانگین آن به عنوان زمان تاخیر قبل از دارو محسوب و ثبت گردید. حیواناتی که حداقل در دو آزمون از سه مورد فوق زمان تاخیر بیش از ۶ ثانیه داشتند، از جریان آزمون حذف شدند، سپس ۲۰ دقیقه پس از تزریق دارو یک سری دیگر ۳ تایی از آزمون انجام شد و میانگین آن به عنوان زمان تاخیر پس از دارو ثبت گردید. مرفین به صورت درون صفاقی به حیوانات تزریق شده و زمان پس کشیدن دم در حیوانات ثبت شد.

تست فرمالین: در این آزمایش از مدل پیشنهادی Dubuisson and Dennis (۲۳)به منظور ارزیابی درد مزمن استفاده شد. بدین صورت که حیوانات ۱ ساعت قبل از تست به منظور عادت کردن با شرایط آزمایش به داخل جعبه مخصوص تست فرمالین منتقل شدند، این جعبه مخصوص از جنس پلکسی گلاس و در ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ ساخته شده بود و به منظور مشاهده بهتر حرکات حیوان، آینه ای با زاویه ۴۵ درجه زیر آن و روبروی فرد مشاهده کننده قرار می گرفت. ۳۰ دقیقه پس از تزریق درون صفاقی داروها، ۵۰ میکرولیتر فرمالدیید ۲/۵ درصد به کف پای راست حیوان به صورت زیرجلدی تزریق شد و حیوان مجددا به جعبه مخصوص تست برگردانده شد و رفتار حیوان مورد بررسی قرار گرفت و به صورت زیر برای مدت ۶۰ دقیقه نمره گذاری شد، به نحوی که هر ۱۵ ثانیه یک بار پاسخ حرکتی درد به صورت اعداد ۰، ۱، ۲، و ۳ ثبت گردید: عدد صفر، در مواردی که حیوان هنگام راه رفتن تعادل کامل داشت و وزنش روی هر

Archive of SID
www.SID.ir

دو پا توزیع شده بود؛ عدد ۱، برای هنگامی که حیوان وزن بدن خود را روی پای تزریق شده، تحمل نمی کرد و یا از پای تزریق شده مراقبت می کرد؛ عدد ۲، برای وقتی که حیوان پنجه دردناک را بلند می کرد و هیچ گونه تماسی با کف محفظه نداشت؛ عدد ۳، برای زمانی که حیوان پنجه دردناک را می لیسید، می جوید یا به شدت تکان می داد. میانگین ۵ دقیقه ابتدای هر تست به عنوان فاز اول تست فرمالین (فازحاد) و میانگین دقایق۶۰-۱۵ تست به عنوان فاز دوم تست فرمالین (فازمزمن) محسوب شد.

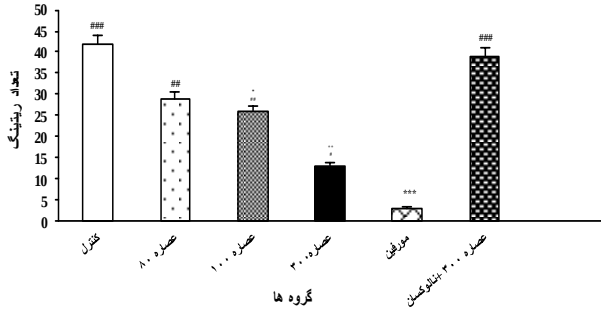
داروها: مرفین سولفات و نالوکسان، از دارو پخش (ایران) و اسید استیک و فرمالین از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

تجزیه و تحلیل آماری: داده ها با استفاده از تحلیل واریانس یک طرفه و به دنبال آن، آزمون توکی تجزیه و تحلیل شدند و $p<۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

نتایج مطالعه در تست ریتینگ نشان داد که تزریق دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره سبب کاهش ۱۷واحدی تعداد ریتینگ (انقباضات شکمی موش) نسبت به گروه کنترل گردید ($p<۰/۰۵$). همچنین استفاده از دوز بالای عصاره یعنی دوز ۳۰۰ میلی گرم برکیلوگرم سبب کاهش ۲۹ واحدی تعداد ریتینگ نسبت به گروه کنترل گردید($p<۰/۰۱$).

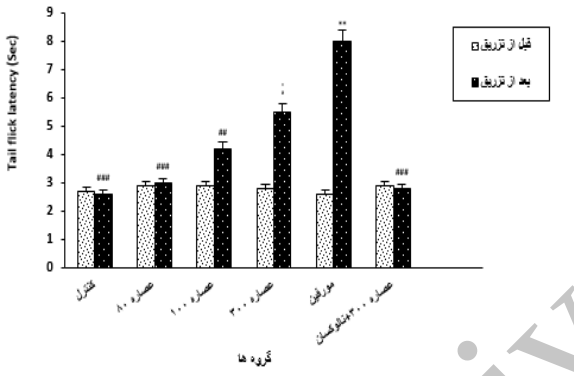
در این مدل آزمایشگاهی مشخص شد که استفاده از نالوکسان به همراه دوز بالای عصاره سبب برگرداندن اثرات ضد دردی عصاره به تنهایی گردید. همچنین استفاده از مورفین سبب کاهش ۳۹ واحدی تعداد انقباضات شکمی نسبت به گروه کنترل گردید ($p<۰/۰۰۱$) (نمودار ۱). در تست تیل فلیک استفاده از دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره اثر ضد دردی معنی داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد و مدت زمان عکس العمل پرش دم در موش (Tail-flick Latency) را از ۲/۸۴±۰/۷۶ ثانیه در گروه کنترل به ۵/۵۲±۱/۸۸ ثانیه رساند($p<۰/۰۵$). این در حالی است که استفاده از دوزهای ۸۰ و ۱۰۰ میلی گرم در این تست اثر ضد دردی معنی داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد. در این آزمایش نیز استفاده توام نالوکسان به همراه دوز بالای عصاره سبب برگرداندن اثرات ضد دردی عصاره شد. استفاده از مورفین سبب افزایش مدت زمان عکس العمل پرش دم در موش از ۲/۸۱±۰/۳۴ ثانیه در گروه کنترل به ۵/۵۲±۱/۸۸ ثانیه رساند ثانیه گردید ($p<۰/۰۱$)(نمودار۲). نتایج حاصل از تست فرمالین نشان داد که تزریق دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم عصاره در فاز مزمن درد اثر ضد دردی معنی داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد ($p<۰/۰۵$). چنانچه امتیاز درد را از ۲ واحد به ۰/۹واحد رساند. استفاده از این دوز در فاز حاد درد اثر ضد دردی معنی داری را نسبت به گروه کنترل اعمال نکرد. از سویی تزریق دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم عصاره در هر دو فاز مزمن و حاد درد اثر ضد دردی معنی داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد و امتیاز درد را تقریبا به میزان ۱/۵ واحد در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد ($p<۰/۰۱$). در این تست نیز استفاده توام عصاره با دوز بالا به همراه نالوکسان اثرات ضد دردی را برعکس نمود. همچنین استفاده از مورفین نیز همانند دوز ۳۰۰ میلی گرم عصاره توانست اثر ضد دردی معنی داری را در هر دو فاز مزمن و حاد درد در مقایسه با گروه کنترل نشان دهد ($p<۰/۰۱$). همچنین مشخص شد اثرات ضد دردی عصاره خوشاریزه عمدتا بر فاز مزمن تست فرمالین موثر است (نمودار ۳).



نمودار ۱. مقایسه میانگین تعداد ریتینگ موش صحرایی نر با غلظتهای مختلف عصاره برگ گیاه خوشاریزه در آزمون اسید استیک

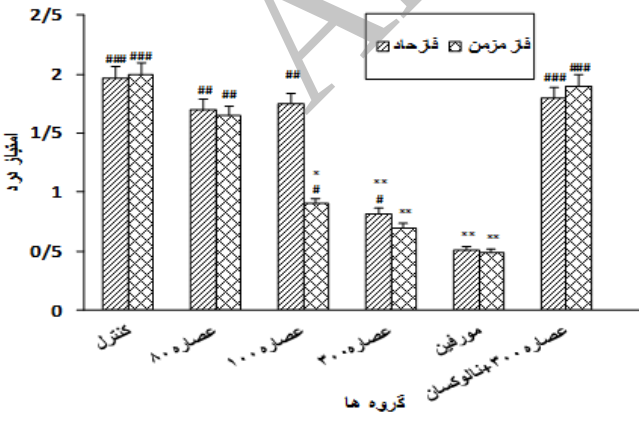
$^{*}p<۰/۰۵$، $^{**}p<۰/۰۱$، $^{***}p<۰/۰۰۱$، اختلاف معنی دار با گروه کنترل

$^{\#}p<۰/۰۵$، $^{\#\#}p<۰/۰۱$، $^{\#\#\#}p<۰/۰۰۱$، اختلاف معنی دار با گروه مورفین



نمودار ۲. مقایسه میانگین غلظتهای مختلف عصاره در تست تیل فلیک و اختلاف معنی دار با گروه کنترل

$^{*}p<۰/۰۵$، $^{**}p<۰/۰۱$، $^{***}p<۰/۰۰۱$. $^{\#}p<۰/۰۵$، $^{\#\#}p<۰/۰۱$، $^{\#\#\#}p<۰/۰۰۱$، اختلاف معنی دار با گروه مورفین



نمودار ۳. مقایسه میانگین نمره درد موش صحرایی نر با غلظتهای مختلف عصاره برگ گیاه خوشاریزه در آزمون فرمالین

$^{*}p<۰/۰۵$، $^{**}p<۰/۰۱$، در مقایسه با گروه کنترل

$^{\#}p<۰/۰۵$، $^{\#\#}p<۰/۰۱$، $^{\#\#\#}p<۰/۰۰۱$، اختلاف معنی دار با گروه مورفین

Archive of SID
www.SID.ir

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه تجربی مشخص شد که گیاه خوشاریزه دارای اثرات ضد دردی است. در مطالعه ای که توسط Sayyah و همکاران بر روی گیاه Cuminum cyminum که عضوی از خانواده Umbelliferae است مشخص شد که این گیاه دارای اثرات ضد دردی محیطی می باشد(۲۴). همچنین در مطالعه دیگری که توسط Barros وهمکاران انجام گرفت اثر ضد دردی عصاره گیاه Pluchea quitoc با استفاده از تست اسیداستیک به اثبات رسید (۲۵). در تحقیق حاضر نیزعصاره هیدروالکلی گیاه خوشاریزه مانند مطالعات قبلی انجام شده، مانع دل پیچه ناشی از اسید استیک گردید لذا حدس زده می شود که اثرات تسکینی آن با مکانیزم های محیطی حمایت می گردد. تزریق درون صفاقی اسید استیک می تواند سبب ایجاد التهاب حاد صفاق شود. در این مدل، به نظر می رسد که اثرات ضددردی محیطی گیاه خوشاریزه به طور غیر مستقیم به وسیله مدیاتورهای داخلی نظیر برادی کینین، سرتونین، هیستامین، ماده p و پروستاگلاندین ها ایجاد شده باشد، چرا که همه این مدیاتورها با تحریک نورون های دردزای محیطی در ارتباط می باشند (۲۶).

مطالعات مختلفی به ارزیابی اثرات ضد دردی عصاره گیاهان مختلف با استفاده از تست حرارتی تیل فلیک پرداختند. مطالعه ای توسط Arambewela و همکاران انجام پذیرفت و طی آن مشخص شد عصاره گیاه Alpinia calcarata با دوز متوسط خود سبب کاهش درد می گردد(۲۷). نتایج مطالعه کنونی نشان می دهد که تزریق دوزهای متوسط و زیاد عصاره موجب کاهش درد ناشی از محرک حرارتی در آزمون تیل فلیک می گردد. از آنجا که تست تیل فلیک به منظور بررسی رفلکس های نخاعی و شناسایی مسیر ضددردی مرکزی استفاده می شود (۲۸)، می توان پیشنهاد کرد که عصاره خوشاریزه دارای اثرات ضددردی مرکزی می باشد. تزریق زیر جلدی فرمالین سبب ایجاد دو فاز مختلف دردزا می شود. فاز اول، فاز نوروژنیک (حاد) می باشد که در پیرامون نورون های فعال دردزا تحت اثر مستقیم فرمالین ایجاد می شود و فاز دوم که فاز التهابی (مزمن) نام دارد، در اثر فعال سازی نورون های شاخ شکمی در سطح نخاع ایجاد می شود (۲۹). در مطالعه ای که توسط Haroon Khan و همکاران انجام شد اثر ضد دردی گیاه Polygonatum verticillatum با استفاده از تست فرمالین به اثبات رسید و طی آن مشخص شد عصاره این گیاه سبب کاهش درد در فاز مزمن تست فرمالین می گردد و عمدتا این اثرات از طریق فلاونوئیدها و آلکالوئیدهای موجود در عصاره عمل می کنند(۳۰). نتایج حاصله نشان می دهد که عصاره خوشاریزه، اثر مهاری بر درد اعمال می کند، البته این اثر به نحوی است که فاز مزمن را بیشتر از فاز حاد کاهش می دهد. مهار فاز مزمن تست فرمالین توسط عصاره، می تواند به علت التهاباتی باشد که سبب آزاد شدن ترکیباتی چون پروستاگلاندینهای $F_{2\alpha}$ و E_2 شود که حداقل در برخی مقادیر می تواند باعث حساس سازی نورونهای درد زای مرکزی شود (۳۱). به منظور ارزیابی تداخل سیستم اوپیوئیدی در اثر ضد دردی عصاره این گیاه از نالوکسان (یکی از داروهای آنتاگونیست سیستم اوپیوئیدی) استفاده شد که از فعال شدن رسپتورهای اوپیوئیدی جلوگیری می کند (۳۲). نتایج این مطالعه نشان داد که نالوکسان موجب کاهش اثر ضددردی عصاره می شود. بنابراین به نظر می رسد که اثر عصاره گیاه در تسکین درد، به واسطه گیرنده های اوپیوئیدی باشد. همانطور که اشاره شد خوشاریزه دارای ترکیبات فیتوشیمیایی مهمی چون آلکالوئیدها و فلاونوئیدها بود. آزمایشات قبلی نشان داده اند که عصاره های آلکالوئیدی حداقل در قسمتی از سیستم های تسکینی مخدری نقش دارند (۳۳). از سویی گزارشات متفاوتی اثرات ضد دردی آلکالوئیدها را تایید کرده است (۳۴). فلاونوئیدهای گوناگون اثرات ضد التهابی و ضددردی فراوانی دارند (۳۵). چنانچه فلاونوئیدها با مهار فعالیت گیرنده N–متیل–D–آسپارتات، سبب کاهش کلسیم داخل سلولی می گردد و به دنبال آن فعالیت آنزیم سنتزکننده نیتریک اکساید و فسفولیپاز A_2 وابسته به کلسیم را کاهش می دهند. در نتیجه با کاهش نیتریک اکساید و پروستاگلاندین ها، به ویژه پروستاگلاندین E_2 و $F_2\alpha$، اثرات ضد دردی خود را نشان می دهند (۳۸-۳۶). از سویی گزارشات متفاوتی اثرات ضد دردی ساپونین ها را تایید کرده است و اشاره شده که ساپونین ها خود سبب مهار سنتز آنزیم القایی نیتریک اکساید (iNOS) و سنتز سیکلواکسیژناز۲ (COX-2) می گردند (۳۹).

در یک نتیجه گیری کلی از آزمایش حاضر می توان دریافت که استفاده از عصاره هیدروالکلی برگ گیاه خوشاریزه سبب مهار درد های حاد و مزمن در موش های صحرایی نر می گردد. هر چند مکانیسم اثر گیاه کاملا مشخص نیست، اما باتوجه به نتایج پژوهش های انجام شده بر روی انواع گیاهان دارای اثرات ضددردی و وجود فلاونوییدها در بیشتر این گیاهان و با توجه به اثر آن بر سیستم اعصاب مرکزی و محیطی عصاره این گیاه احتمالا هم به صورت محیطی و هم به صورت مرکزی اثر تعدیلی بر درد داشته و منجر به افزایش مقاومت در برابر درد و کاهش پاسخ دهی به دردهای حاد و مزمن می شود. لذا پیشنهاد می شود که در مطالعات آتی مکانیسم های اثر ضد دردی بیشتری مورد بررسی قرار گیرد و سایر انواع عصاره نیز بررسی گردد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه پیام نور تهران جهت حمایت از این تحقیق و راهنمایی علمی دکتر محمد زارعی، تشکر و قدردانی می گردد.

Archive of SID
www.SID.ir

The Analgesic Effect of Echinophora Platyloba Hydroalcoholic Extract in Male Rats

M. Asgari Nematian (PhD)[1], S. Mohammadi (PhD)[2*]

1. Department of Biology, Payam-noor University, Tehran, I.R.Iran
2. Department of Biology, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 18(5); May 2016; PP: 31-7

Received: Nov 14th 2015, Revised: Jan 6th 2016, Accepted: Mar 2th 2016.

Abstract

BACKGROUND AND OBJECTIVES: In traditional Iranian medicine, use of medicinal herbs is prevalent for the treatment and alleviation of pain and inflammation. *Echinophora Platyloba* is one of the major medicinal herbs with confirmed anti-cancer, anti-microbial, and anti-fungal effects. Therefore, in this study, we aimed to evaluate the analgesic effects of *E. platyloba* hydroalcoholic extracts in male rats.

METHODS: In this experimental study, 42 rats were divided into six groups, i.e., control group, extract groups (80, 100, and 300 mg/kg via intraperitoneal injection), morphine group (1 mg/kg via intraperitoneal injection), and naloxone group (1 mg/kg of naloxone along with 300 mg/kg of the extract). To evaluate the analgesic effects of the extracts, rating, tail flick, and formalin tests were performed.

FINDINGS: In the writhing test, doses of 100 and 300 mg/kg of the extracts could decrease the rating score from 43.3±22.61 to 27.31±2.34 ($p<0.05$) and 29.0±67.91 ($p<0.01$) in the control group, respectively. In addition, administration of 300 mg/kg of the extract in tail flick test decreased the latency time from 2.84±0.76 to 5.52±1.88 sec in the control group ($p<0.05$). Moreover, in formalin test, 300 mg/kg of the extract reduced the pain score in both acute and chronic phases from 2.18±0.22 to 0.74±0.13 in the control group ($p<0.01$).

CONCLUSION: According to the present results, *E. platyloba* hydroalcoholic extracts have central and peripheral analgesic effects.

KEY WORDS: *Hydroalcoholic Extract, Analgesic, Echinophora Platyloba, Medicinal Herbs.*

Please cite this article as follows:

Asgari Nematian M, Mohammadi S. The Analgesic Effect of Echinophora Platyloba Hydroalcoholic Extract in Male Rats. J Babol Univ Med Sci. 2015;18(5):31-7.

***Corresponding author: S. Mohammadi (PhD)**

Address: Department of Biology, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, I.R.Iran

Tel: +98 81 12518064

E-mail: smiauhphd.sm@gmail.com

Archive of SID

www.SID.ir

References

1.Goldman L, Bennett JC. Cecil textbook of medicine. 21st ed. WB Saunders Co; 2000.p.103-4.

2.Weiner RS. Pain management: A practical guide for clinicians. 6th ed. Florida: CRC Press Inc; 2001.p. 3-9.

3.Calixto JB. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal view. J Ethnopharmacol.2005; 100(1-2): 131–4.

4.Javan M, Ahmadiani A, Semnanian S, Kamalinejad M. Antinociceptive effects of trigonella foenum /graecum leaves extract. J Ethnopharmacol.1997; 58 (2):5-129.

5.Nafisy AT. A review of traditional medicine in Iran. Isfahan: University Publications; 1989. p.121.

6.Avizhgan M, Hafizi M, Saadat M. Anti-fungal effect of hydroalcoholic extract of Echinophora platyloba on Candida albicans. Iran J Med Aromatic Plants 2006; 21(4):545-52.[In Persian]

7.Rechinger KH. Felora Iranica. vol:72. Austria: Academic Print Pub Comp; 1987.p.132-8.

8.Asghari GR, Sajjadi SE, Sadraei H, Yaghobi KH. Essential oil constituents of Echinophora platyloba D.C. Iran J Pharm Res. 2003;2(3): 185-6.

9.Glamoclija JM, Sokovic MD, Siljegovic JD, Mihailo S. Ristić, Ćirić AD, Grubišić DV. Chemical composition and antimicrobial activity of Echinophora spinosa L. (Apiaceae) essential oil. Rec Nat Prod 20011; 5(4):319-23.

10.Hashemi P, Abolghasemi MM, Ghiasvand AR, Ahmadi Sh, Hassanvand H, Yarahmadi A. A comparative study of hydrodistillation and hydro-distillation–solvent microextraction methods for identification of volatile components of Echinophora cinerea. Chromatographia.2009; 69(8): 179-82.

11.Heidarian E, Saffari J,Jafari-Dehkordi E. Hepatoprotective action of echinophora platyloba DC leaves against acute toxicity of acetaminophen. J Diet Suppl. 2014;11(1):53-63.

12.Mazloomifar H, Saber-Tehrani M, Rustaiyan A, Masoudi Sh. Constituents of the essential oil of echinophora platyloba DC. growing wild in Iran. J Esse Oil Res. 2004; 16: 284-5.

13.Mahmoodi M, Mohammadi S, Zarei M. Antinociceptive effect of hydroalcoholic leaf extract of tribulus terrestris L. in male rat. J Babol Univ Med Sci.2013; 5(6): 36-43.[In Persian]

14.Mohammadi S, Zarei M, Mahmoodi M, Zarei MM. In vivo antinociceptive effects of persian shallot (Allium hirtifolium) in male rat. Avicenna J Neuro Psych Physio. 2015 ; 2(1): 27-37.

15. Asgari Nematian M, Mohammadi S. The evaluation of the analgesic effects and acute toxicity of methanol extract of pimpinella anisum.L in male wistar rats. J Babol Univ Med Sci.2015;17(5):59-65.[In Persian]

16. Zarei M, Mohammadi S, Abolhassani N, Asgari Nematian M. The antinociceptive effects of hydroalcoholic extract of bryonia dioica in male rats. Avicenna J Neuro Psych Physio.2015; 2(1): 18-25.

17. Rates SMK. Plants as source of drugs. Toxicon. 2001; 39(5): 603-13.

18. Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. Pain. 1983;16(2): 109-11.

19. 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(2): 295-310.

20. Jensen TS, Yaksh TL. Comparison of antinociceptive action of morphine in the periaqueductal gray, medial and paramedial in rat. Brain Res.1986;363(1):99-113.

21. Bentley GA, Newton SH, Starr J. Evidence for an action of morphine and the enkephalins on sensory nerve endings in the mouse peritoneum. British J Pharmacol. 1981; 73(2): 325-32.

22. D'Amour FE, Smith DL. A method of determining loss of pain sensation. J Pharmacol Exp Ther.1941;27(1):74-7.

23. Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effect of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. Pain.1977; 4(1): 161-74.

Archive of SID

www.SID.ir

24. Sayyah M, Peirovi A, Kamalinejad M. Anti-Nociceptive effect of the fruit essential oil of cuminum cyminum L. in rat. Iran Biomed J.2002; 6(4): 141-5.
25. Barros IMC, Lopes LDG, Borges MOR, Borges ACR. Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of Pluchea quitoc(DC.) ethanolic extract. J Ethnopharmacol. 2006, 106: 317-320.
26. Fields HL, Basbaum AJ. The textbook of pain: Central nervous system mechanisms of pain modulation. NewYork: Churchill Livingstone; 1994.p.243-51.
27. Arambewela LSR, Arawwawala LDAM, Ratnasooriya WD. Antinociceptive activities of aqueous and ethanolic extracts of Alpinia calcarata rhizomes in rats. J Ethnopharmacol 2004; 95(2-3): 311–6.
28. Negus SS, Vanderah TW, Brandt MR, Bilsky EJ, Becerra L, Borsook D. Preclinical assessment of candidate analgesic drugs: recent advances and future challenges. J Pharmacol Exp Ther 2006; 319(2): 507-14.
29. Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. Pain. 1992; 51(1): 5-17.
30. Khan H, Saeed M, AU Gilani. The antinociceptive activity of Polygonatum verticillatumrhizomes in pain models. J Ethnopharmacol 2010; 127(2): 521-7.
31. Le Bars D, Gozariu M, Cadden S. Animal models of nociception. Pharmacol Rev. 2001; 53(4):628–51.
32. Vaccarino AL, Tasker RAR, Melzack R. Analgesia produce by normal doses of opioid antagonists alone and in combination with morphin. Pain. 1989;36(1):103-9.
33. Reanmongkol W, Subhadhirasakul S, Thienmontree S, Thanyapanit K, Kalnaowakul J. Antinociceptive activity of the alkaloid extract from Kopsia macrophylla leaves in mice. Songklanakarin J Sci Technol. 2005; 27(2): 509-16.
34. Farouk L, Laroubi A, Aboufatima R, Benharref A, Chait A. Evaluation of the analgesic effect of alkaloid extract of Peganum harmala L., Possible mechanisms involved. J Ethnopharmacol 2008; 115: 449-54.
35. Bittar M, de Souza MM, Yunes RA, Lento R, DelleMonache F, Cechinel Filho V. Antinociceptive activity of I3,II8-binaringenin, a biflavonoid present in plants of the guttiferae. Planta Med.2000; 66(1): 84-6.
36. Calixto JB, Beirith A, Ferreira J, Santos AR, Filho VC, Yunes RA. Naturally occurring antinociceptive substances from plants. Phytother Res. 2000; 14(6): 401-18.
37. Woodman OL, Chan E. Vascular and anti-oxidant actions of flavonols and flavones. Clin Exp Pharmacol Physiol.2004; 31(11): 786-90.
38. Cho H, Yun CW, Park WK, Kong JY, Kim KS, Park Y, et al. Modulation of the activity of pro-inflammatory enzymes, COX-2 and iNOS, by chrysin derivatives. Pharmacol Res. 2004; 49(1): 37-43.
39 Starec M, Waitzová D, Elis J. Evaluation of the analgesic effect of RG-tannin using the “hot plate” and “tail flick”method in mice. Cesk Farm.1988; 37(7): 319-21

Archive of SID

www.SID.ir