Original Article

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

Mohadeseh Shekari[1], Sare Gorji[1], Maryam Rahimi Tesiye[1], Farhad Valizadegan[1], Shahrbano Oryan[2]*

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

[2]*Department 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

International License Creative Commons Attribution License 4.0

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره سیزدهم، شماره هفتم، مهر ۹۸
صفحه ۶۲ الی ۷۱

مقاله پژوهشی
(Original Article)

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 ولی‌زادگان[۱*]، شهربانو عریان[۲]

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

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

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. به‌منظور بررسی اثرات ضد درد و ضدالتهابی هر عصاره با استفاده از تست فرمالین یا گزیلن، حیوانات به گروه‌های ۶ تایی تقسیم شدند. گروه‌ها عصاره هیدروالکلی مخروط ماده ارس (با دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) و عصاره هیدروالکلی دانه اسفرزه (با دوزهای ۱۰،۵۰،۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) را به‌صورت گاواژ خوراکی به مدت ۲۸ روز دریافت کردند. گروه‌های شاهد (دریافت‌کننده نرمال‌سالین) و کنترل مثبت (دریافت‌کننده مورفین با دوز ۱۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) در گروه درد و یا دگزامتازون (با دوز ۱۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) در گروه التهاب برای هر عصاره درنظر گرفته شدند. داده‌ها با استفاده از آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه 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 معنی‌داری درد در دو فاز حاد ($p\leq ۰/۰۵$) و مزمن ($p\leq ۰/۰۵$) گردید. نتایج حاصل از تست گزیلن، اثرات کاهشی را بر التهاب نشان داد ($p\leq ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: 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؛ گزیلن.

*نویسنده مسئول مکاتبات:
فرهاد ولی‌زادگان؛ 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 به‌صورت 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]

International License Creative Commons Attribution License 4.0

مقدمه

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

اوپیوئیدها ازجمله ترکیبات با خواص ضد درد هستند که به دو شکل وجود دارند: اوپیوئیدهای درون‌زاد که به‌طور طبیعی در بدن هستند و اوپیوئیدهای برون‌زاد مانند مورفین که در خارج از بدن بوده و به‌عنوان 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 طولانی‌مدت 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 xcelsae.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 به‌صورت 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)؛ به‌عنوان‌مثال نتایج پژوهش‌های پیشین نشان داده‌اند خاصیت ضدالتهابی ترکیب Alpha-pinene موجود در آن، به‌علت پروستاگلاندین E1 می‌باشد (۱۲)، که با مهار تحریک ترشح واسطه‌های التهابی، خاصیت ضد دردی نیز اعمال می‌کند (۱۳).

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 سانتی‌متر است و دارای برگ‌های باریک و دراز، سنبله‌های استوانه‌ای یا تقریباً مدور و یا تخم‌مرغی‌شکل می‌باشد. دانه‌ها به‌صورت استوانه با حاشیه‌ای باریک و غشایی هستند (۱۵). همچنین این گیاه دارای ریشه راست به طول ۳۰-۲۰ سانتی‌متر 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). به‌علت اثرات مخرب استفاده از داروهای شیمیایی به‌ویژه 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 به‌عنوان 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)، خریداری‌شده از دانشگاه تهران استفاده شد. موش‌ها یک‌هفته قبل از شروع آزمایش، در شرایط استاندارد (با دمای ۲±۲۲ سانتیگراد و تناوب نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی) نگهداری شدند.

International License Creative Commons Attribution License 4.0

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

موش‌ها به‌صورت 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 (دریافت‌کننده محلول نرمال‌سالین به‌صورت گاواژ به مدت ۲۸ روز) و زیرگروه کنترل مثبت (دریافت‌کننده مورفین با دوز ۱۰ میلی‌گرم برکیلوگرم به روش داخل صفاقی) بررسی گردید. چهار زیرگروه دیگر هرکدام عصاره مخروط ماده گیاه ارس را در دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم به‌مدت ۲۸ روز به‌صورت گاواژ خوراکی دریافت کردند، سپس تست فرمالین روی آن‌ها انجام شد.

در شش گروه دیگر اثرات هیدروالکلی دانه اسفرزه در گروه شاهد (دریافت‌کننده محلول نرمال‌سالین، به‌صورت گاواژ به‌مدت ۲۸ روز) و گروه کنترل مثبت (دریافت‌کننده مورفین با دوز ۱۰ میلی‌گرم برکیلوگرم به روش داخل صفاقی) بررسی و چهار گروه مابقی به ترتیب دوره‌ای، عصاره هیدروالکلی دانه اسفرزه را با دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰میلی‌گرم برکیلوگرم به‌صورت گاواژ خوراکی به مدت ۲۸ روز دریافت کردند.

در این مرحله از آزمایش، ۱۲ گروه موش وجود داشت که به دو زیرگروه شش‌تایی تقسیم شدند. در شش زیرگروه اول اثرات ضدالتهابی عصاره هیدروالکلی مخروط ماده ارس در گروه شاهد (دریافت‌کننده محلول نرمال‌سالین، به‌صورت گاواژ به‌مدت ۲۸ روز) و گروه کنترل مثبت (دریافت‌کننده دگزامتازون با دوز ۱۵ میلی‌گرم برکیلوگرم به روش داخل صفاقی) بررسی شد. چهار گروه دیگر نیز به ترتیب عصاره مخروط ماده ارس را در دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم به‌مدت ۲۸ روز به‌صورت گاواژ خوراکی دریافت کردند، سپس تست گزیلن بر روی آن‌ها انجام گرفت.

در شش زیرگروه دیگر، اثرات ضدالتهابی دانه گیاه اسفرزه در گروه شاهد (دریافت‌کننده محلول نرمال‌سالین به‌مدت ۲۸ روز به‌صورت گاواژ) و گروه کنترل مثبت (دریافت‌کننده داروی دگزامتازون با دوز ۱۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) بررسی شد. چهار گروه مابقی، دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم عصاره هیدروالکلی دانه اسفرزه را به‌صورت گاواژ خوراکی به‌مدت ۲۸ روز دریافت کردند.

در این مطالعه از مخروط‌های ماده گیاه ارس (با شماره هرباریومی۱۸۱۴) و دانه گیاه اسفرزه (با شماره هرباریومی ۱۳۵۹ جمع‌آوری‌شده 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 به‌وسیله آسیاب الکتریکی به‌صورت پودر درآمدند.

برای تهیه عصاره مخروط ماده ارس، ۱۰۰ گرم مخروط ماده پودرشده در۲۰۰ میلی‌لیتر محلول هیدروالکلی اتانول - آب (اتانول ۱۴۰ - آب مقطر ۶۰) به‌مدت ۵ روز (بر روی دستگاه Stirrer) خیسانده شد و در ادامه، با کاغذ واتمن صاف گردید. حاصل صافی ابتدا به‌وسیله دستگاه تقطیر، سپس آون خشک شد. درصد وزن عصاره خشک حاصل، محاسبه و برای حل کردن آن از محلول نرمال‌سالین (با دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) جهت انجام گاواژ خوراکی به موش‌ها استفاده شد (۱۷).

برای تهیه عصاره دانه اسفرزه، ۱۰۰ گرم دانه پودرشده گیاه در ۵۰۰ میلی‌لیتر الکل ۷۰٪ به مدت ۷۲ ساعت بر روی دستگاه Stirner قرار داده شد. بعد از ۷۲ ساعت، محتویات داخل ظرف سه بار به‌وسیله کاغذ صافی و قیف شیشه‌ای داخل ارلن صاف گردید، سپس محلول صاف‌شده درون بالن ریخته شد و در دستگاه روتاری قرار گرفت. بعد از خروج حلال، مایع درون بِشر ریخته شد و به مدت ۱۰ روز در آون قرار گرفت تا خشک شود. درصد وزن عصاره خشک حاصل، محاسبه و برای حل کردن آن از محلول نرمال‌سالین به‌منظور تهیه دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم استفاده گردید (۱۸).

دستگاه تست درد، جعبه‌ای شیشه‌ای به ابعاد ۱۳×۱۲×۳۰ سانتی‌متر 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 مشاهده‌کننده قرار دارد.

International License Creative Commons Attribution License 4.0

برای انجام تست، ابتدا حیوان جهت سازگاری با محیط به‌مدت ۱۵ دقیقه در جعبه استاندارد شیشه‌ای گذاشته شد، سپس برحسب اینکه حیوان متعلق به کدام گروه باشد، محلول نرمال‌سالین و یا مورفین به‌صورت داخل صفاقی به حیوان تزریق و پس‌ازآن 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٪ به‌صورت زیرجلدی به کف پای عقبی حیوان تزریق شد. پس‌ازآن، حیوان به دستگاه تست درد بازگردانده شد تا رفتارهای حیوان موردبررسی قرار گیرد. ازآنجایی‌که لیسیدن پای عقبی به‌ندرت در طی رفتار طبیعی حیوان رخ می‌دهد، پاسخی‌که درصورت استفاده از پای عقبی ایجاد می‌شود، در مقایسه با پای جلویی بیشتر به درد اختصاص دارد. مدت‌زمان تکان دادن، لیسیدن و یا جویدن پا، به‌عنوان زمان لیسیدن در نظر گرفته شد و در دو مرحله (۵-۰ دقیقه) به‌عنوان فاز حاد (۳۰-۲۰ دقیقه) و به‌عنوان فاز مزمن برحسب ثانیه اندازه‌گیری شدند (۱۹). در این تست که برای سنجش میزان التهاب از آن استفاده می‌شود، پس از اتمام زمان گاواژ 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 گزیلن که به‌عنوان 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 گزیلن به آن تزریق شده بود نشان می‌داد.

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

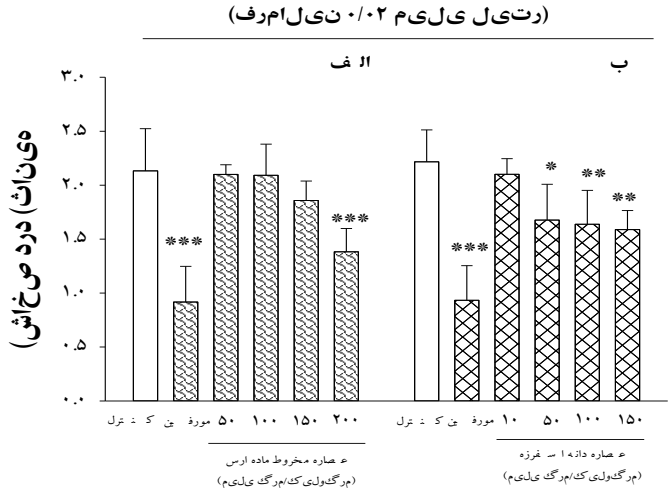
داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰، آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی (برای اثبات فرض نرمال بودن داده‌ها) در سطح معنی‌داری، $p\leq ۰/۰۵$ تحلیل شدند. رسم نمودارها به کمک نرم‌افزار Sigma Plot نسخه ۱۲ انجام شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از گاواژ 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 ($p\leq ۰/۰۰۱$). در دیگر گروه‌های تجربی نیز میانگین درد با افزایش دوز عصاره کاهش یافت {$p\leq ۰/۰۰۱$، $f_{(۳۰،۵)}$=۲۰/۴۰۷} (نمودار شماره ۱: الف). نتایج حاصل از گاواژ 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 ($p\leq ۰/۰۵$)، ($p\leq ۰/۰۱$)، ($p\leq ۰/۰۱$) {$p\leq ۰/۰۰۱$، $f_{(۳۰،۵)}$=۱۶/۴۷۵} (نمودار شماره ۱: ب).

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

International License Creative Commons Attribution License 4.0



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

***نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد است ($p\leq۰/۰۰۱$).

**نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد است ($p\leq۰/۰۱$).

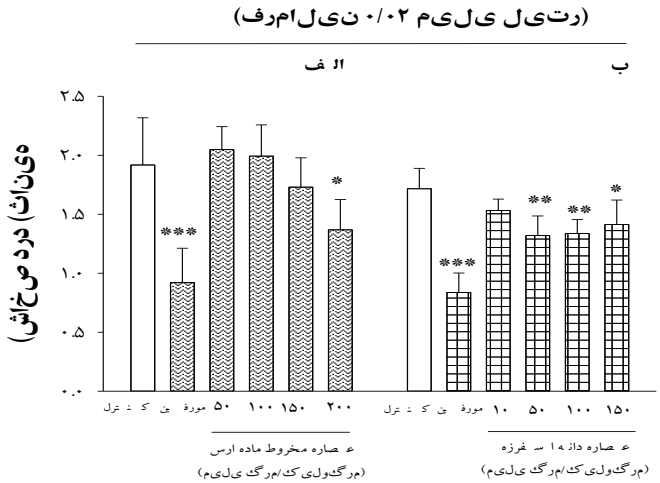
*نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد است ($p\leq۰/۰۵$).

نتایج به‌صورت mean±Sd بیان‌شده‌اند.آنالیز با واریانس یک‌طرفه و تست پشتیبان توکی صورت گرفته است.

نتایج حاصل از گاواژ عصاره هیدروالکلی مخروط ماده ارس (در دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) و مقایسه آن‌ها با گروه شاهد (گروه دریافت‌کننده نرمال‌سالین)، نشان‌دهنده کاهش درد در فاز مزمن گروه دریافت‌کننده دوز ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم ($p\leq۰/۰۵$) بود

{$f(۳۰،۵) = ۱۴/۴۴۶$ ،$p\leq۰/۰۰۱$} (نمودار شماره ۲: الف). نتایج حاصل از گاواژ عصاره هیدروالکلی دانه گیاه اسفرزه در دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم به موش‌ها و مقایسه آن‌ها با گروه شاهد، کاهش معنی‌داری در فاز مزمن درد در گروه‌های دریافت‌کننده دوز ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم ($p\leq۰/۰۰۱$)، ($p\leq۰/۰۰۱$) و ($p\leq۰/۰۵$) نشان داد {$f(۳۰،۵)=۲۰/۷۷۱$ ،$p\leq۰/۰۰۱$}.

با توجه به یافته‌های فوق، گروه‌های شاهد (دریافت‌کننده نرمال‌سالین)، بیشترین مدت‌زمان لیسیدن و گروه‌های کنترل مثبت (دریافت‌کننده مورفین با دوز ۱۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) و گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای مختلف این دو عصاره، کمترین مدت‌زمان لیسیدن را به خود اختصاص دادند که نشان‌دهنده اثرات عصاره این دو گیاه بر روی کاهش درد در فاز مزمن بود.



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.

*** نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد است ($p\leq۰/۰۰۱$).

** نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد است ($p\leq۰/۰۱$).

* نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد است ($p\leq۰/۰۵$).

نتایج به‌صورت mean±Sd بیان‌شده‌اند.آنالیز با واریانس یک‌طرفه و تست پشتیبان توکی صورت گرفته است.

International License Creative Commons Attribution License 4.0

نتایج حاصل از گاواژ عصاره هیدروالکلی مخروط ماده ارس در دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم به موش‌ها و مقایسه آن‌ها با گروه شاهد (دریافت‌کننده نرمال‌سالین)، اختلاف معنی‌داری در کاهش التهاب در گروه‌های دریافت‌کننده دوز ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم نشان داد ($p\leq۰/۰۵$)، ($p\leq۰/۰۱$) {$f(۳۰،۵)=۴/۶۵۱$ ،$p\leq۰/۰۱$}.

نتایج حاصل از گاواژ عصاره هیدروالکلی دانه گیاه اسفرزه (در دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) به موش‌ها و مقایسه آن‌ها با گروه شاهد، کاهش سطوح التهاب را در گروه دریافت‌کننده دوز ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم عصاره نشان داد ($p\leq۰/۰۰۱$)، ($p\leq۰/۰۱$) {$f(۳۰،۵)=۷/۸۲۶$ ،$p\leq۰/۰۰۱$} (نمودار شماره ۳: ب).

گروه شاهد (دریافت‌کننده نرمال‌سالین)، بیشترین میزان التهاب و گروه‌های کنترل مثبت (دریافت‌کننده دگزامتازون با ۱۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) و دریافت‌کننده دوزهای مختلف عصاره‌های فوق، کمترین میزان التهاب را به خود اختصاص دادند.

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

***** نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد است ($p\leq۰/۰۰۱$).**

**** نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد است ($p\leq۰/۰۱$).**

*** نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد است ($p\leq۰/۰۵$).**

نتایج به‌صورت mean±Sd بیان شده‌اند. آنالیز با واریانس یک‌طرفه 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) موردبررسی 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 عصبی‌توسط فرمالین بوده و ۲- درد در فاز مزمن (تأخیری) که یک فرآیند التهابی است و ناشی از هیستامین، پروستاگلاندین، سروتونین و برادی‌کینین است (۱۷). بنابراین، درد در مرحله دوم عمدتاً به‌صورت التهابی بروز می‌کند. داروهای اوپیوئیدی مانند مورفین که اساساً به‌صورت مرکزی عمل می‌کنند، هر دو فاز القای درد به‌وسیله فرمالین را مهار کرده؛ درحالی‌که داروهای NSAID مانند آسپرین و استروئیدهایی مثل دگزامتازون با اثر محیطی، فقط فاز تأخیری درد ناشی از فرمالین را مهار می‌کنند (۲۱)؛ درنتیجه از طریق داروهای ضد دردی، امکان بررسی و شناسایی مکانیزم‌های درد و ضد دردی فراهم می‌شود (۱۹).

التهاب ناشی از تزریق فرمالین، بیشتر به‌علت 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).

International License Creative Commons Attribution License 4.0

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 زایلن نسبت به گروه کنترل سالین مشاهده می‌گردد. داروی دگزامتازون نیز به‌عنوان یک ترکیب استروئیدی ضدالتهاب چنین اثری را ایجاد می‌کند.

داروهایی با فعالیت مرکزی مثل اوپیوئیدها 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 آبشار 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؛ بدین‌ترتیب که فعالیت واسطه‌هایی همچون اینترلوکین‌ها، α-TNF، نیتریک اکساید و پروتئین کیناز فعال‌شونده با میتوژن 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 اوپیوئیدی 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).

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 زایلن نسبت به گروه کنترل سالین ایجاد می‌شود.

ترکیبات موجود در دانه اسفرزه شامل: اسید بنزوئیک، اسیدکافئیک، 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 موردبررسی 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؛ به‌عنوان‌مثال 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 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).

International License Creative Commons Attribution License 4.0

ترکیب دیگر موجود در دانه این گیاه، P-کوماریک اسید (P-CA) بوده که قادر است میانجی التهاب (COX2) و سیتوکین‌ها (TNF-α, IL-1β) (از فاکتورهای مهم در التهاب) را مهار کند. همچنین این ترکیب با تأثیر بر کاهش بیان میانجی التهاب TNF-α، اثرات ضدالتهابی قابل‌توجهی 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).

به‌طورکلی 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 به‌نظر می‌رسد بخشی از اثرات ضدالتهابی عصاره هیدروالکلی دانه اسفرزه، فعال کردن چنین مسیرهایی می‌باشد.

نتیجه‌گیری

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. به‌نظر 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.

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

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, propanolol 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

International License Creative Commons Attribution License 4.0

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 excels 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 phytocannabinoidterpenoid 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 (PlantagoovataForsk) 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 ovate 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 dissolutionof 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 Pharmcol 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, Máñez S, Ríos JL. Structurl 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-κb and MAPKs pathways. Med Chem 2016;6(5):327-30. Link

29. Eidi A, Roustaian 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

International License Creative Commons Attribution License 4.0