مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره هفدهم، شماره ۷، تیر ۱۳۹۴، صفحه ۶۵-۵۸

مقاله تحقیقی

بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گل میخک (Dianthus deltoides) در پاسخ التهابی با استفاده از تست گزیلن و واکنش به محرک درد به روش آزمون Hot Plate در بین موش های سوری

عبدالله شکیبا دستگردی[۱]، محمود رفیعیان کوپایی (PhD)[۲*]، ناهید جیواد (MD)[۳]، مرتضی سدهی (PhD)[۴]، ندا اردشیری لردجانی (MD)[۱]، طیبه شکیبا دستگردی (BSc)[۵]

۱-کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
۲-مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
۳-، گروه آموزشی مغز و اعصاب، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
۴-گروه آموزشی آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
۵-دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

دریافت: ۹۳/۴/۲۱، اصلاح: ۹۳/۷/۲ ، پذیرش: ۹۴/۲/۱۶

خلاصه

سابقه و هدف: گل میخک حاوی فنلی به نام اوژنول می باشد که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی، ضد دردی و ضد التهابی می باشند. لذا این مطالعه بـه منظـور بررسـی اثـر عصاره هیدروالکلی گل میخک بر التهاب و واکنش به محرک درد در موش سوری انجام شد.

مواد و روشها: در این تحقیق تجربی برای بررسی اثر عصاره بر التهاب، از ۴۸ سر موش سوری نر که به ۶ گروه شامل گروه شاهد (سـالین)، کنتـرل مثبـت (دگزامتـازون) و گروه های تجربی (دریافت عصاره به ترتیب با دوزهای ۴۲، ۸۵، ۱۷۰ و ۳۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم) تقسیم شدند، استفاده گردید. برای بررسـی میـزان احسـاس درد، از ۱۶۰ سر موش سوری نر استفاده شد که به ۴ دسته تقسیم و هر دسته به ۵ گروه تقسیم شدند که شامل گروه شاهد (سالین)، کنترل مثبت (مرفین)، گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و گروه دریافت کننده توام عصاره ۲۰۰ میلی گرم بـر کیلـوگرم و نالوکسـان (۴ میلی گرم بر کیلوگرم) بود. برای بررسی پاسخ به درد از هرکدام از ۴ دسته به صورت جداگانه در یکی از زمان های ۵، ۱۵، ۳۰ یا ۶۰ دقیقه پس از تزریق، آزمون صفحه داغ گرفته شد. وزن برش های ۷ میلی متری تهیه شده از دو گوش پس از دو ساعت از تزریق ۰/۰۳ میلی لیتر گزیلن به پشت گوش راست موش ها، با هم مقایسه شدند.

یافته‌ها: در آزمون التهاب در گروه شاهد و گروه دریافت کننده عصاره mg/kg ۴۲ ، دارای بیشترین اختلاف وزن بین برش های تهیه شده از دو گوش حیوان (بـه ترتیـب ۳۶±۵/۱ و ۳۳±۵/۳ میکروگرم) بود و کمترین میزان مربوط به دوز mg/kg ۱۸۰و۳۴۰ (بـه ترتیـب ۲۱±۲/۱ و ۱۷±۱/۵میکروگـرم) بـود. در آزمـون صـفحه داغ، در بـین گروه‌های تیمار شده با عصاره، عصاره mg/kg ۵۰۰ در ۱۵ دقیقه قبل از آزمون، دارای بیشترین زمان تاخیر و کمترین میزان مربوط به گروه دریافت کننده توام نالوکسان و عصاره mg/kg ۲۰۰ در ۵ دقیقه قبل از آزمون بود (برحسب ثانیه به ترتیب برابر با ۱۸/۹۱±۱/۵۳ و ۸/۷۱±۱/۰۴).

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که عصاره گل میخک دارای خواص ضد التهابی و ضد دردی می باشد.

واژه‌های کلیدی: گل میخک، صفحه داغ، نالوکسان، مرفین، دگزامتازون، گزیلن.

مقدمه

در بین گیاهان دارویی شناخته شده، میخک دارای قدمت نسبتا زیادی است. گل میخک حاوی ۲۱-۱۴ درصد اسانس است که حـاوی ۸۰-۷۰ درصـد از یـک ترکیب فلاونوییدی به نام اوژنول است (۱). فلاونویید ها ترکیبات پلی فنل طبیعی موجود در گیاهان می باشند که دارای خواص ضد دردی و ضد التهابی هستند (۲). در یک تحقیق تزریق موضعی اوژنول به کـف پـای حیـوان و نیـز تجـویز داخـل صفاقی اوژنول موجـب کـاهش معنـی دار حـس درد در تسـت فرمـالین شـد(۳).

▣ این مقاله حاصل پایان نامه عبدالله شکیبا دستگردی دانشجوی رشته پزشکی و طرح تحقیقاتی به شماره ۱۶۶۴ دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد می باشد.
* مسئول مقاله: دکتر محمود رفیعیان کوپایی
آدرس: شهرکرد، دانشگاه علوم پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی. تلفن: ۳۳۴۶۶۹۲-۰۳۸۳
E-mail:rafieian@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.7.8.7]
[DOI: 10.22088/jbums.17.7.58]

همچنین در تحقیقی دیگر یافته ها حاکی از آن بود کـه تیمـار مـوش هـای مـاده شیرده با عصاره میخک باعث ایجاد خاصیت ضد دردی در زاده های نر شده است که این بی دردی در فاز مزمن درد خود را به صورت معنـی دار نشـان داده اسـت (۴). التهاب واکنش سیستم مویرگی است که با حرکت مایع و گلبول های سفید از خون به بافت های خارج عروقی و تظاهراتی چـون تـورم، قرمـزی، گرمـی و درد همراه است. این پدیده تلاشـی از طـرف میزبـان جهـت لوکـالیزه کـردن اجسـام خارجی، میکروارگانیسم ها و آنتی ژن ها یا سلول های درگیر است (۵). التهـاب از جمله موضوعاتی است که همواره مورد توجه محققان بـوده اسـت، چـرا کـه ایـن پدیده دفاعی بدن خود می تواند عامل آسیب و بروز بیماری های مختلف گردد. به دلیل اهمیت و وسعت این پدیده در بدن، جستجو جهت یـافتن داروهـایی کـه بـه نحوی این مساله را کنترل و تعدیل کنند، امری کاملا لازم و دارای اولویت بالا در تحقیقات می باشد (۶).

درمان های شیمیایی از جمله کاربرد گلوکوکورتیکوئیدها ضمن ایفای نقـش اساسی در رفع التهاب، گاهی اوقات موجب ایجاد عوارض جانبی شدید در بیمار نیز می شوند (۷). در زمینه درد نیز باتوجه بـه تعـدد محـرک هـای ایجـاد کننـده آن پیچیدگی مکانیسمهای ایجاد هدایت و احساس درد و اینکه درد شایعترین شکایت بالینی بیماران است، هنوز هم یافتن راه های غلبه بر درد مورد توجه محققان علوم زیستی در جهان می باشد (۸). با ساخت داروهای شیمیایی ضد درد و ورود آنها به بازار دارویی و استفاده وسیع از آنها جهت تسکین درد، طیف وسیع عوارض جـانبی آنها مشخص شده است (۹). با نگاهی به مصرف انبوه داروهـای ضـد درد و ضـد التهاب در جوامع کنـونی و عـوارض جـانبی ایـن داروهـا، لـزوم مطالعـه پیرامـون داروهای جایگزین گیاهی و صناعی به شدت احساس می شود. لذا این مطالعه بـه منظور بررسی اثر ضد دردی و ضد التهابی عصاره هیدروالکلی گل میخک بر روی موش های سوری نژاد Balb/c صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

داروها: مرفین سولفات از شرکت داروپخش (ایران)، نالوکسان از شرکت تولید دارو (ایران) و گزیلن از شرکت Romil (انگلیس) تهیه شد. در این مطالعه تجربـی از ۲۰۸ سر موش سوری نر بالغ نژاد Balb/c با محدوده وزنـی ۳±۲۵ گـرم مـورد استفاده قرار گرفت (۱۶۰ سر موش سوری برای بررسی اثـر ضـد دردی و ۴۸ سـر موش سوری برای بررسی اثر ضد التهابی). جهت ایجاد تطـابق بـا محـیط جدیـد، موش های خریداری شده از مرکز انستیتو پاستور تهران برای یک هفته در محـل لانه حیوانات دانشگاه علـوم پزشـکی شـهرکرد بـا رعایـت دمـای ۲۵-۲۱ درجـه سانتیگراد نگهداری شدند. طی این مدت محدودیتی از نظر آب و غذای اسـتاندارد (پلت) برای حیوانات وجود نداشت. یک هفته بعد، وزن کلیه موش ها اندازه گیـری و ثبت شد (۱۰).

روش عصاره گیری: پـس از تهیـه گـل میخـک (Dianthus deltoides) و تایید متخصص گیاه شناسی مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشـکی شهرکرد، گل میخک در سایه و در دمای مناسب خشکانده شده و سپس ۱۵۰ گرم گل میخک خشک شده پودر و داخل ظـرف شیشـه ای مناسـب ریختـه و بـه آن ۱۰۰۰ میلی لیتر الکل اتیلیک ۸۰ درصد اضافه شد تا روی پودر را بپوشاند. پـس از ۳ روز عصاره را با استفاده از قیف و کاغذ صافی، فیلتره نموده (این عمل دو مرتبه تکرار شد) و عصاره جمع شده گیاه، به دستگاه تقطیر در خلاء منتقل و در حـرارت پایین تغلیظ شد. سـپس عصـاره در حجـم مشخصـی از آب مقطـر حـل شـد تـا غلظت های مورد نظر از عصاره به دست آید (۱۱).

بررسی اثر ضد التهاب عصاره گل میخک: برای بررسی اثر ضد التهـابی از تسـت گزیلن استفاده شد. برای انجام این تست از ۴۸ سر موش سوری نر استفاده شد که موش ها به صورت تصادفی به ۶ گروه ۸تایی تقسیم شدند. این گروه هـا شـامل: گروه شاهد (تجویز سالین داخل صفاقی با دوز ۱۰ میلی لیتر به ازای هـر کیلـوگرم وزن موش)، گروه کنترل مثبت (تجویز ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم دگزامتازون حـل شده در نرمال سالین به روش داخل صفاقی) و گروه های تجربی (که به هرکـدام از این گروه های تجربی عصاره گل میخک با دوزهـای متفـاوت ۴۲، ۸۵، ۱۷۰ و ۳۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم، به صورت تک دوز برای هر حیوان و به صورت داخـل صفاقی تزریق شد.

سپس برای ایجاد التهاب در گوش موش هـا، از گـزیلن اسـتفاده شـد. بـه طوری که ۱۵ دقیقه بعد از تزریقات درون صفاقی ذکـر شـده، ۰/۰۳ میلـی لیتـر گزیلن در سطح قدامی و پشتی لاله گوش راست حیوان تزریق و دو ساعت بعـد حیوان کشته شد، سپس هر دو گوش حیوان را جدا کرده و برش هـای ۷ میلـی متری از دو گوش چپ و راست گرفته، وزن شـد و اخـتلاف وزن بـرش هـای دو گوش چپ و راست محاسبه شد. این اختلاف وزن میزان التهاب را نشان می دهد و هر چه تفاوت وزن دو گوش بیشتر باشد، میزان التهاب نیز بیشتر است (۲).

بررسی اثر ضد درد عصاره گل میخک: بـرای بررسـی اثـر ضـد دردی از آزمـون صفحه داغ استفاده شد. برای این آزمون از ۱۶۰ سر موش سوری نر استفاده شـد. در این بررسی موش ها بصورت تصادفی به ۴ دسته ۴۰ تایی تقسیم شـدند و هـر دسته نیز به ۵ گروه تقسیم شدند که در هر گروه ۸ سر موش سوری قرار گرفت. ۵ گروه موجود در هر دسته شامل یک گروه شاهد بود که نرمـال سـالین بـا دوز ۱۰ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن موش دریافت کردند و یک گروه کنترل مثبـت که مرفین با دوز ۲/۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش دریافـت کردنـد و دو گروه مورد که دوزهای ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم عصاره را بـه ازای هـر کیلـوگرم وزن بدن دریافت کردند و در گروه پنجم، جهت یافتن مکانیسم اثر احتمـالی ایـن عصاره بر تسکین درد، ابتدا ۴ میلی گرم بر کیلوگرم نالوکسان (که یک آنتاگونیست و بلوک کننده انتخابی گیرنده های اوپیوئیدی است) به صورت زیر جلدی در ناحیه پشت حیوان تزریق شد و پس از گذشت ۵ دقیقه، عصاره گل میخک بـا دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تزریق شد (۱۲). از هر یـک از ایـن دسته ها برای اندازه گیری تاخیر در عکس العمل حیوانات به ترتیب در زمان های ۵ و ۱۵ و ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از تزریق استفاده شد (۱۲). درجه گرمای صفحه داغ در ۵۲/۵ درجه سانتی گراد تنظیم شد. زمانی که حیوان بـر روی صـفحه داغ قـرار می گیرد، به عنوان نقطه شروع و زمانی که حیوان شروع بـه لیسـیدن دسـتهایش می کند (ملاک ارزیابی درد در این آزمون)، به عنوان نقطه پایان و شاخص ارزیابی درد تلقی شد. در صورت عدم واکنش حیوان در برابر محرک درد، بعد از ۲۵ ثانیـه آزمایش را خاتمه داده و حیوان از محـل داغ برداشـته شـد (۱۳). در ایـن مطالعـه حیوان در حداقل زمان ممکن مورد استفاده قـرار گرفـت. در پایـان هـر بخـش از مطالعه، موشها با رعایت اصول اخلاقی از مطالعه حذف شدند. در انتهـا داده هـای حاصل با استفاده از آزمون Anova و تست تعقیبـی Tukey تجزیـه و تحلیـل شدند و $p<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.7.8.7]
[DOI: 10.22088/jbums.17.7.58]

یافته ها

در آزمون بررسی التهاب (تست گزیلن)، مقایسه نتایج حاصل از گروه شاهد با سایر گروه ها حاکی از آن بود که بجز گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۴۲ میلی گرم بر کیلوگرم، سایر گروه ها اختلاف معنی داری از نظر تفاوت وزن برشهای تهیه شده از گوش راست و چپ حیوان با گروه شاهد دارند (p<۰/۰۵). مقایسه گروه کنترل مثبت با سایر گروه ها نیز نشان داد که بجز گروه های دریافت کننده عصاره با دوز ۱۷۰ و ۳۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم، سایر گروه ها اختلاف معنی داری با گروه کنترل مثبت دارند (p<۰/۰۵). در مقایسه گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۴۲ میلی گرم بر کیلوگرم با سایر گروه ها، نتایج نشان داد که نتایج حاصل از مقایسه این گروه با گروه شاهد، اختلاف معنی داری ندارد ولی این مقایسه بین گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۴۲ میلی گرم بر کیلوگرم با سایر گروهها اختلاف معنی داری را نشان داد (p<۰/۰۵).

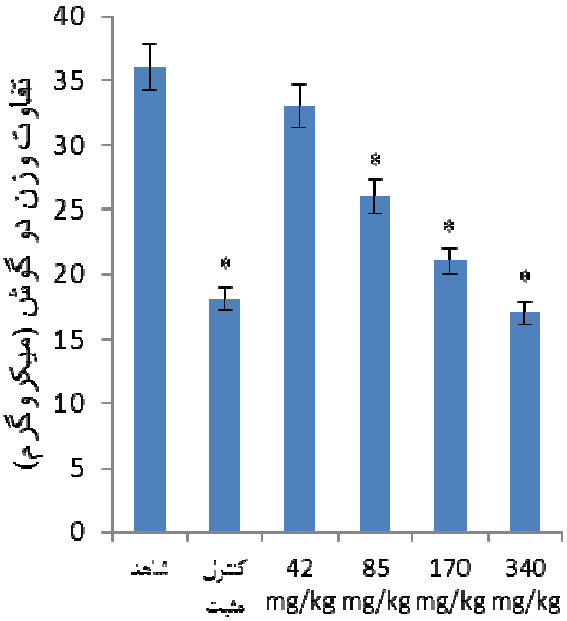
مقایسه نتایج حاصل از گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۸۵ میلی گرم بر کیلوگرم با گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۱۷۰ میلی گرم بر کیلوگرم، اختلاف معنی داری را نشان نداد ولی این مقایسه بین گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۸۵ میلی گرم بر کیلوگرم با سایر گروه ها از نظر آماری دارای تفاوت معنی دار بود (p<۰/۰۵).

مقایسه گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۱۷۰ میلی گرم بر کیلوگرم با سایر گروه ها، نشان داد که بجز گروه کنترل مثبت و گروه های دریافت کننده عصاره با دوز ۸۵ و۳۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم، سایر گروه ها تفاوت معنی داری در نتایج حاصله با گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۱۷۰ میلی گرم بر کیلوگرم دارند (p<۰/۰۵). مقایسه نتایج حاصل از گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۳۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم با گروه کنترل مثبت و گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۱۷۰ میلی گرم بر کیلوگرم، تفاوت آماری معنی داری نداشت ولی این مقایسه بین گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۳۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم با سایر گروه ها، اختلاف معنی داری را نشان داد (p<۰/۰۵) (جدول و نمودار ۱).

جدول ۱. اختلاف وزن برش های تهیه شده از گوش راست و چپ موش بر حسب میکروگرم در آزمون گزیلن (تعداد نمونه=۴۸)

گروه	Mean±SD
شاهد	۳۶±۵/۱
کنترل مثبت	۱۸±۲/۸
عصاره ۴۲ mg/kg	۳۳±۵/۳
عصاره ۸۵ mg/kg	۲۶±۲/۲
عصاره ۱۸۰ mg/kg	۲۱±۲/۱
عصاره ۳۴۰ mg/kg	۱۷±۱/۵

در آزمون بررسی واکنش به محرک درد (آزمون صفحه داغ)در دسته اول (گرفتن آزمون صفحه داغ ۵ دقیقه پس از انجام مداخله) و در دسته دوم (اجرای آزمون ۱۵ دقیقه بعد از انجام تزریقات) و نیز در دسته سوم (اجرای آزمون ۳۰ دقیقه بعد از انجام تزریقات)، در گروه های دریافت کننده عصاره با دوز ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و نیز گروه دریافت کننده مرفین (کنترل مثبت)، افزایش معنی داری در زمان عدم واکنش به محرک درد (لیسیدن دست ها) نسبت به گروه شاهد و گروه دریافت کننده توام عصاره ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم گل میخک به همراه نالوکسان، مشاهده شد (p<۰/۰۵). همچنین در گروه دریافت کننده مرفین (کنترل مثبت)، افزایش معنی داری در زمان تحمل محرک درد نسبت به گروههای دریافت کننده عصاره گل میخک با دوز ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم مشاهده شد (p<۰/۰۵). در مقایسه گروه های دریافت کننده عصاره با دوز ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیز، مدت زمان عدم واکنش موش به قرار گرفتن بر روی صفحه داغ بصورت لیسیدن دستها در گروه دریافت کننده عصاره گل میخک با دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، بیشتر بود (p<۰/۰۵).



نمودار ۱. بررسی میزان اختلاف وزن برش های تهیه شده از گوش راست و چپ حیوان در گروه های مختلف بر حسب میکروگرم

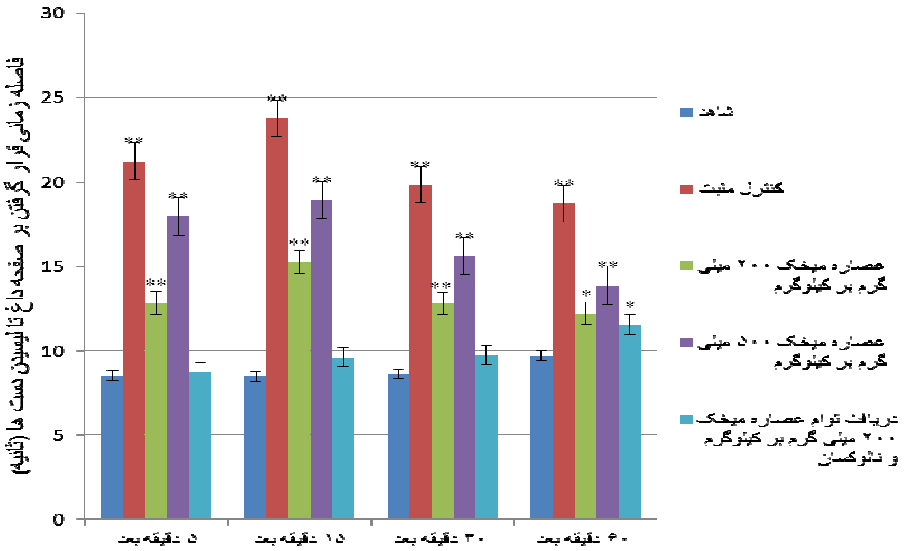
*** سطح معنی دار بودن در مقایسه با گروه شاهد با p<۰/۰۵**

در مقایسه گروه دریافت کننده توام عصاره ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم گل میخک به همراه نالوکسان، نسبت به گروه شاهد، اختلاف معنی داری در آستانه تحمل درد نداشت. در دسته چهارم (انجام آزمون ۶۰ دقیقه بعد از تزریقات)، در گروه دریافت کننده عصاره گل میخک با دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، افزایش معنی داری در آستانه تحمل درد، نسبت به گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، مشاهده نشد. همچنین افزایش معنی داری در گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، نسبت به گروه دریافت کننده توام عصاره ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم گل میخک به همراه نالوکسان، مشاهده نشد. در سایر موارد نتایج آنالیز آماری گروههای موجود در دسته چهارم، نتایج مشابه سه دسته اول را به همراه داشت (جدول و نمودار ۲).

[DOI: 10.22088/jbums.17.7.58]
[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.7.8.7]

جدول ۲. توزیع آستانه تحمل درد در زمان های ۵، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه بعد از مداخله در دسته های چهارگانه بر حسب ثانیه در آزمون صفحه داغ (n=۱۶۰)

متغیرها / گروه ها	دسته اول (انجام آزمون ۵ دقیقه بعد از مداخله) Mean±SD	دسته دوم (انجام آزمون ۱۵ دقیقه بعد از مداخله) Mean±SD	دسته سوم (انجام آزمون ۳۰ دقیقه بعد از مداخله) Mean±SD	دسته چهارم (انجام آزمون ۶۰ دقیقه بعد از مداخله) Mean±SD
شاهد	۸/۵۱±۱/۲۰	۸/۴۸±۱/۲۶	۸/۶۰±۱/۰۶	۹/۷۰±۱/۳۲
کنترل مثبت	۲۱/۲۲±۱/۷۴	۲۳/۷۵±۱/۵۰	۱۹/۸۲±۱/۶۵	۱۸/۷۳±۱/۷۹
عصاره ۲۰۰ mg/kg	۱۲/۸۱±۰/۷۹	۱۵/۲۵±۰/۶۱	۱۲/۸۰±۰/۶۵	۱۲/۲۰±۰/۸۱
عصاره ۵۰۰ mg/kg	۱۷/۹۵±۱/۴۴	۱۸/۹۱±۱/۵۳	۱۵/۶۱±۱/۳۵	۱۳/۸۸±۰/۸۷
دریافت کننده توام نالوکسان و عصاره ۲۰۰ mg/kg	۸/۷۱±۱/۰۴	۹/۶۱±۱/۳۸	۹/۷۶±۱/۱۳	۱۱/۵۲±۰/۶۸



نمودار ۲. مقایسه آستانه تحمل گروه های پنج گانه موجود در دسته های مختلف بر حسب ثانیه در آزمون صفحه داغ

* سطح معنی دار بودن در مقایسه با گروه شاهد با p<۰/۰۵

** سطح معنی دار بودن در مقایسه با گروه شاهد با p<۰/۰۱

بحث و نتیجه گیری

در بررسی اثرات ضد التهابی عصاره گل میخک در تست گزیلن، نتایج حاکی از آن بود که عصاره این گیاه (بجز عصاره با دوز ۴۲ میلی گرم بر کیلوگرم)، نسبت به گروه شاهد به صورت وابسته به دوز منجر به کاهش معنی دار اختلاف وزن برشهای تهیه شده از گوش راست و چپ حیوان می گردد که حاکی از تاثیر مثبت عصاره این گیاه در جلوگیری از القای التهاب ناشی از تجویز گزیلن می باشد. همچنین نتایج حاصل از انجام آزمون صفحه داغ، نشان داد که به طور کلی عصاره گل میخک به صورت وابسته به دوز سبب افزایش معنی داری در آستانه تحمل درد در موش سوری می گردد ولی در گروهی که دریافت توام عصاره ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و نالوکسان را داشتند، افزایش محسوسی در آستانه تحمل درد مشاهده نشد (بجز در دسته چهارم که آزمون ۶۰ دقیقه پس از انجام تزریقات گرفته شد). در توجیه یافته های حاصل از این تحقیق، ابتدا باید به مواد موثره موجود در گل میخک اشاره کرد. گل میخک حاوی ۲۱-۱۴ درصد اسانس است. اسانس این گیاه حاوی ۸۰-۷۰ درصد از یک ترکیب فلاونوییدی به نام اوژنول (Eugenol) است که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی است. مهمترین مکانیسم عملکرد آنتی اکسیدان ها، خنثی کردن رادیکال های آزاد است. سایر ترکیبات موجود در اسانس میخک شامل کاربوفلین، الکل، بنزیلیک، بنزوات دموتیل، فورفوول و اتیلن می باشد (۱). فلاونوییدها ترکیبات طبیعی موجود در گیاهان می باشند که دارای خواص ضد دردی و ضد التهابی هستند. فلاونویید ها یکی از مهار کننده های آنزیم سنتز کننده نیتریت اکساید به شمار می روند و مانع تولید آن می شود و کاهش نیتریت اکساید منجر به فعالیت ضد دردی می شود. فلاونوییدها با مهار فعالیت گیرنده های N-متیل-D-آسپارتات سبب کاهش کلسیم داخل سلولی می شوند و به دنبال آن فعالیت آنزیم سنتزکننده نیتریت

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.7.8.7]
[DOI: 10.22088/jbums.17.7.58]

اکساید و فسفولیپاز A2 وابسته به کلسیم کاهش می یابد و در نتیجه با کاهش NO و پروستاگلاندین ها اثرات ضد دردی خود را نشان می دهند. همچنین با توجه به شواهد موجود فلاونویید ها با مهار آنزیم سیکلواکسیژناز تولید پروستاگلاندین E را از اسید آراشیدونیک در پاسخ به محرک های التهابی مهار می کند (۲). در زمینه بررسی التهاب و تاثیر گیاهان دارویی بر روند التهاب است. نتایج تحقیقات حاکی از آن است که عصاره هیدروالکلی بذر کتان در کلیه دوزهای مورد آزمایش (۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) دارای اثر ضد التهابی معنی داری در مقایسه با گروه کنترل، بوده و این اثر را به مواد موثره بذر کتان از جمله فنیل پروپانوئید ها، موسیلاژها و فلاونوئید ها نسبت داده اند (۱۴) و در تحقیقی دیگر، نتایج حاکی از اثرات ضد درد و ضدالتهابی معنی داری در گروههای تیمار شده با عصاره این گیاه نسبت به گروه شاهد، بوده است و این خاصیت در دوزهای بالاتر عصاره مشهودتر بوده است. اثرات ضدالتهابی و ضد دردی این عصاره را به خواص آنتی اکسیدانی به خاطر وجود ترکیب های فلاونوئیدی وایریدوئیدی در عصاره گیاه چای کوهی، نسبت داده اند (۱۵). علت بدست آوردن نتایج مشابه موارد فوق را در پژوهش حاضر، می توان به ترکیبات موثره عصاره این گیاهان نسبت داد زیرا در تمامی موارد ترکیب های فلاونوئیدی، جزو ثابت مواد موثره عصاره این گیاهان بوده است. در زمینه بررسی خاصیت ضد دردی گیاهان دارویی نیز مطالعات متعددی صورت گرفته است که توجیه کننده نتایج حاصل از بررسی اثرات ضد دردی عصاره هیدروالکلی گل میخک در مطالعه حاضر است. نتایج تحقیق Shirani و همکاران خاصیت ضد دردی این عصاره را تایید کرده است که این خاصیت همانند مطالعه حاضر به صورت وابسته به دوز بوده و در دوزهای بالاتر از عصاره، میزان افزایش در آستانه تحمل درد محسوس تر بوده است و نیز جهت بررسی مکانیسم خاصیت ضد دردی احتمالی این عصاره، در یکی از گروه های آزمایشی علاوه بر تزریق عصاره، نالوکسان نیز تزریق شده است که نتایج حاکی از کاهش معنی دار خاصیت ضد دردی در این گروه نسبت به سایر گروه هایی بوده است که تنها عصاره دریافت نموده اند (۱۰). با توجه به نقش نالوکسان در جلوگیری از فعال شدن رسپتورهای اوپیوئیدی، به نظر می رسد که علت کاهش آستانه تحمل درد مطالعه ای که بر روی عصاره هیدروالکلی گل میخک انجام شد، مربوط به تاثیر مواد موثره موجود در عصاره این گیاه بر روی گیرنده های اوپیوئیدی باشد. در تحقیقی به ارزیابی اثرات ضد درد اوژنول (Eugenol) با استفاده از تست فرمالین در موش صحرایی پرداخته شد، نتایج حاکی از وابسته به دوز بو.دن خاصیت ضد دردی اوژنول است(۳). با در نظر گرفتن این نکته که سهم قابل توجهی از ماده موثره گل میخک مربوط به اوژنول است (۱)، می توان این احتمال را مطرح کرد که علت وابسته به دوز بودن خاصیت ضد دردی عصاره هیدروالکلی گل میخک، مربوط به مواد موثره موجود در آن بخصوص اوژنول باشد. درد و التهاب هر دو باعث استرس اکسیداتیو می شوند (۱۹-۱۶). ترکیبات فلاونوئیدی نیز با اثر انتی اکسیدانی اثر قابل توجهی در تسکین انواع درد و التهاب دارند (۲۲-۲۰). بنابراین قسمتی از اثر ضد درد و ضد التهاب گل کتان بایستی مربوط به خواص آنتی اکسیدانی گیاه باشد. اگر قبول کنیم که ترکیبات فنلی و آنتی اکسیدانها اثر ضد درد دارند، بنابراین گیاهان دیگر نیز که حاوی ترکیبات فنلی و دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هستند (۲۵-۲۳) نیز بایستی اثر ضد درد داشته باشند که این مسئله نیاز به تحقیقات بیشتر دارد. با توجه به نتایج این مطالعه، عصاره هیدروالکلی گل میخک دارای خواص ضد دردی و ضد التهابی می باشد و ممکن است جایگزین مناسبی برای داروهای شیمیایی ضد درد و ضد التهاب باشد. به نظر می رسد ترکیبات فلاونوئیدی این گیاه، با فعالیت آنتی اکسیدانی خود، نقش موثری در مهار درد و التهاب دارند. تحقیقات تکمیلی بیشتری به طور اختصاصی بر روی مواد موثره گل میخک نیاز است.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت پژوهشی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکردبه دلیل حمایت از این تحقیق، تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.7.8.7]
[DOI: 10.22088/jbums.17.7.58]

Effects of the Hydro-alcoholic Extract of Clove (Dianthus deltoides) on Inflammation and Pain Response using the Xylene Test and Hot Plate Test in Mice

A. Shakiba Dastgerdi [1], M. Rafieian Kopaei (PhD)[*2], N. Jivad (MD)[3], M. Sedehi (PhD)[4], N. Ardeshiri Lordejani (MD)[1], T. Shakiba Dastgerdi (BSc)[5]

1.Student's Research Committee, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R.Iran
2.Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Medicinal Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R.Iran
3.Department of Neurology, Faculty of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R.Iran
4.Department of Epidemiology and Biostatistics, Faculty of Health, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R.Iran
5.Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 17(7); Jul 2015; PP: 58-65

Received: Jul 12th 2014, Revised: Sep 24th 2014, Accepted: May 6th 2015.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Clove contains large proportion of a phenolic compound called eugenol, which has antioxidant, anti-inflammatory and analgesic properties. This study aimed to evaluate the effects of hydro-alcoholic clove extract on inflammation and pain response in mice.

METHODS: In this experimental study, 48 male mice were classified into six groups of control (saline), positive control (dexamethasone) and treatment (receiving 42, 85, 170 and 340 mg/kg of clove extract) to investigate the effects of clove extract on inflammation. To evaluate pain perception, 160 mice were categorized into 4 groups, divided into 5 subgroups including the control (saline), positive control (morphine), recipients of 200 mg/kg clove extract, recipients of 500 mg/kg of extract, and recipients of 200 mg/kg of combined clove extract and naloxone (4 mg/kg). To assess pain response, the hot plate test was performed on each subgroup at 5, 15, 30 and 60 minutes after the injection of the herbal extract. In addition, two hours after the injection of 0.03 ml xylene into the back of the right ears of the mice, the sections obtained from both ears (7 mm) were compared in terms of weight.

FINDINGS: In the inflammation test, the most significant difference in the ear sections was observed between the control group and recipients of 42 mg/kg of extract (36±5.1 and 33±5.3 µg, respectively), while the least significant difference was observed at doses of 180 and 340 mg/kg (21±2.1 and 17 ±1.5 µg, respectively). In the hot plate test on the treatment groups, dose of 500 mg/kg caused the highest pain delay 15 minutes before the test, while the lowest delay was observed in the recipients of combined naloxone and clove extract (200 mg/kg) 5 minutes before the test (18.91±1.53 and 8.71±1.04 seconds, respectively).

CONCLUSION: According to the results of this study, hydro-alcoholic clove extract could have significant anti-inflammatory and analgesic effects on mice.

KEY WORDS: *Clove, Hot plate, Naloxone, Morphine, Dexamethasone, Xylene.*

Please cite this article as follows:

Shakiba Dastgerdi A, Rafieian Kopaei M, Jivad N, Sedehi M, Ardeshiri Lordejani N, Shakiba Dastgerdi T. Effects of the Hydro-alcoholic Extract of Clove (Dianthus deltoides) on Inflammation and Pain Response using the Xylene Test and Hot Plate Test in Mice. J Babol Univ Med Sci. 2015;17(7):58-65.

[*]Corresponding Author: M. Rafieian Kopaei (PhD)
Address: Medical Plants Research Center, Shahrekord Univercity of Medical Sciences, Shahrekord, I.R.Iran
Tel: +98 383 3346692
Email: rafieian@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.7.8.7]
[DOI: 10.22088/jbums.17.7.58]

References

1.Fazel M, Omidbeygi M, Barzegar M, Naghdi Badi H. Influence of heating on antiradical activity of essential oils of thyme, summer savory and clove by 2, 2- Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH) method. J Med Plants. 2007;6(22):54-63.[In Persian]

2.Hoodgar F, Nasri S, Amin GH. Investigation of antinociceptive and anti-inflammatory effects of hydro-alcoholic extract of Securigera securidaca L. Ofogh-e-danesh. J Gonabad Univ Med Sci Heal Ser. 2011;17(1):12-9. [In Persian]

3.Zarifkar A, Skandaryan H, Mokhtary M, Ay J. An evaluation on antinociceptive effects of eugenol by formalin test in rats. J Dent Med Tehran Univ Med Sci. 2003;16(1):61-7.

4.Hatami K, Yousofvand N, Babaei Garmkhany S. Evaluation of analgesic effects of clove extracton male offspring of surrey female miceduring lactation. Armaghane-danesh. 2015;19(10):852-60. [In Persian]

5.Rubin R, Strayer DS, Rubin E. Rubin's pathology: Clinicopathologic foundations of medicine, 6th ed. London: Lippincott Williams & Wilkins; 2012. p.47-8.

6.Barikbin B, Barikbin R, Zoghi AR. Treatments of internal medicine,1st ed. Tehran: Samaat Pub; 1998.p.599-606. [In Persian]

7.Khorasani A. Treasure of pharmacy. 3rd ed. Tehran: Islamic Revolution Edu Pub; 1991.p.324-5. [In Persian]

8.Hejazian SH, Dashti MH, Salami A. The analgesic effect of alcoholic extract of Carum copticum on chornic pain in mice. Iran J Med Aroma Plants. 2008;23(4):468-76. [In Persian]

9.Leppert W. The role of opioid receptor antagonists in the treatment of opioid-induced constipation: a review. Adv Ther. 2010;27(10):714-30.

10.Shirani M, Alibabaei Z, Kheiri S, Shirzad H, Taji F, Asgari A, et al. Effect of euphorbia helioscopia extract on acute and chronic pain in mice. J Babol Univ Med Sci. 2011;13(4):14-8. [In Persian]

11.Rabiei Z, Rafieian-Kopaei M, Heidarian E, Saghaei E, Mokhtari S. Effects of zizyphus jujube extract on memory and learning impairment induced by bilateral electric lesions of the nucleus basalis of meynert in rat. Neurochem Res. 2014;39(2):353-60

12.Rafieian-Kopaei M, Sewell RDE. Opioid tolerance and K_{ATP} channel mediated antinociception. Analgesia. 1995; 1(4-6):667-70.

13.Taherian AA, Vafaei AA, Hajirahimkhan S, Zahedi Khorasani M, Jarrahi M, Miladi Gorji H, et al. Assessing the effect of aqueous extract of the Cuminum cyminm seed on the acute peripheral pain in hot plate and tail flick models in mice. J Sabzevar Univ Med Sci. 2008;15(1):7-13.[In Persian]

14.Ebrahimi Vosta Kalaee S, Talebi Mazraeh Shahi A, Naseri M. Anti-inflammation effect of alcoholic extract of linum. J Babol Univ Med Sci. 2014;16(4):50-6.[In Persian]

15.Nasri S, Ramezanghorbani A, Kamalinejad M. Analgesic and anti-inflammatory effects of hydroalcoholic extract of Stachys Lavandulifolia Vahl s, aerial parts in male mice. Armaghane-danesh. 2011;16(2):161-71. [In Persian]

16.Asgary S, Sahebkar A, Afshani M, Keshvari M, Haghjooyjavanmard Sh, Rafieian-Kopaei M. Clinical evaluation of blood pressure lowering, endothelial function improving, hypolipidemic and anti-inflammatory effects of pomegranate juice in hypertensive subjects. Phytother Res. 2014;28(2):193-9.

17.Bagheri N, Rahimian Gh, Salimzadeh L, Azadegan F, Rafieian-Kopaei M, Taghikhani A, et al. Association of the virulence factors of helicobacter pylori and gastric mucosal interleukin-17/23 mRNA expression in dyspeptic patients. EXCLI J. 2013; 12:5-14.

18.Asgary S, Kelishadi R, Rafieian-Kopaei M, Najafi S, Najafi M, Sahebkar A. Investigation of the lipid-modifying and antiinflammatory effects of Cornus mas L. supplementation on dyslipidemic children and adolescents. Pediatr Cardiol. 2013;34(7):1729-35.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.7.8.7]
[DOI: 10.22088/jbums.17.7.58]

19.Rahimian G, Sanei MH, Shirzad H, Azadegan-Dehkordi F, Taghikhani A, Salimzadeh L, et al. Virulence factors of Helicobacter pylori vacA increase markedly gastric mucosal TGF-β1 mRNA expression in gastritis patients. Microb Pathog. 2014;67-68:1-7.

20.Delfan B, Bahmani M, Hassanzadazar H, Saki K, Rafieian-Kopaei M. Identification of medicinal plants affecting on headaches and migraines in Lorestan Province, West of Iran. Asian Pac J Trop Med. 2014;7(Suppl 1):376-9.

21.Bahmani M, Shirzad HA, Majlesi M, Shahinfard N, Rafieian-Kopaei M. A review study on analgesic applications of Iranian medicinal plants. Asian Pac J Trop Med. 2014;7(Suppl 1):S43-53.

22.Ahmadi-Renani S, Fasihi-Ramandi M, Ahmadi K. Ganoderma lucidum: A promising anti-inflammatory medicinal plant. J HerbMed Pharmacol. 2014;3(1):67-68.

23.Asadbeigi M, Mohammadi T, Rafieian-Kopaei M, Saki K, Bahmani M, Delfan B. Traditional effects of medicinal plants in the treatment of respiratory diseases and disorders: an ethnobotanical study in the Urmia. Asian Pac J Trop Med. 2014;7(Suppl 1): S364-8.

24.Saki K, Bahmani M, Rafieian-Kopaei M. The effect of most important medicinal plants on two important psychiatric disorders (anxiety and depression)-a review. Asian Pac J Trop Med. 2014;7(Suppl 1):S34-42.

25.Rafieian-Kopaei M, Shahinfard N, Rouhi-Boroujeni H, Gharipour M, Darvishzadeh-Boroujeni P. Effects of Ferulago angulata extract on serum lipids and lipid peroxidation. Evid Based Complement Alternat Med. 2014;2014:680856.

26.Parsaei P, Karimi M, Asadi SY, Rafieian-Kopaei M. Bioactive components and preventive effect of green tea (Camellia sinensis) extract on postlaparotomy intra-abdominal adhesion in rats. Int J Surg. 2013;11(9):811-9.

27.Bahmani M, Zargaran A, Rafieian-Kopaei M, Saki M. Ethnobotanical study of medicinal plants used in the management of diabetes mellitus in the Urmia, Northwest Iran. Asian Pac J Trop Med. 2014;7(Suppl 1):S348-54.

28.Bahmani M, Saki K, Rafieian-Kopaei M, Karamati SA, Eftekhari Z, Jelodari M. The most common herbal medicines affecting Sarcomastigophora branches: a review study. Asian Pac J Trop Med. 2014;7(Suppl 1):S14-21.

29.Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Rafieian M. Oxidative stress and the paradoxical effects of antioxidants. J Res Med Sci.2013;18(7):629.

30.Asadi-Samani M, Bahmani M, Rafieian-Kopaei M. The chemical composition, botanical characteristic and biological activities of Borago officinalis: a review. Asian Pac J Trop Med. 2014;7(Suppl 1):S22-8.

31.Mirhosseini M, Baradaran A, Rafieian-Kopaei M. Anethum graveolens and hyperlipidemia: A randomized clinical trial. J Res Med Sci. 2014;19(8):758-61.

32.Bahmani M, Rafieian-Kopaei M, Hassanzadazar H, Saki K, Karamati SA, Delfan B. A review on most important herbal and synthetic antihelmintic drugs. Asian Pac J Trop Med. 2014;7(Suppl 1):S29-33.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.7.8.7]
[DOI: 10.22088/jbums.17.7.58]