

اثر ضد دردی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه گل حساس (*Biophytum Sensitivum* L.) در موش صحرایی نر بالغ

مینو محمودی (PhD)^۱، سعید محمدی (MSc)^{۲*}، آفاق یآوری (MSc)^۳

۱. گروه بیولوژی، دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان

۲. گروه بیولوژی، دانشگاه پیام نور

دریافت: ۹۲/۱۱/۸، اصلاح: ۹۲/۱۲/۱۵، پذیرش: ۹۳/۲/۲۴

خلاصه

سابقه و هدف: گیاهان دارویی به طور وسیعی در سرتاسر جهان، به عنوان منبعی غنی از ترکیبات موثره به ویژه در درمان درد و فرآیندهای التهابی، در طب سنتی به وسیله جوامع استفاده می گردند هدف از این مطالعه بررسی اثر ضددردی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه گل حساس در موش صحرایی نر می باشد.

مواد و روشها: در این مطالعه تجربی از ۴۲ سر موش صحرایی نر در ۷ گروه شامل گروههای: کنترل، گروههای تیمار شده با عصاره (۱۰۰، ۳۰۰ و ۸۰ میلی گرم بر کیلو گرم و درون صفاقی)، مورفین (۱ میلی گرم بر کیلو گرم و درون صفاقی)، اسپیرین (۱ میلی گرم بر کیلو گرم) و نالوکسان (۱ میلی گرم بر کیلو گرم) به همراه دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم عصاره استفاده شد. به منظور ارزیابی اثرات ضددردی عصاره از آزمونهای رایتینگ، تیل فلیک و فرمالین استفاده شد.

یافتهها: عصاره هیدروالکلی برگ گل حساس با دوز ۳۰۰ به طور آشکاری اثر ضد دردی را در تست های رایتینگ (با ۳۰ عدد کاهش)، تیل فلیک (با ۳/۹ ثانیه افزایش مدت زمان چپش دم) با $p < 0.01$ و فاز مزمن تست فرمالین (با کاهش نمره درد از ۲ به ۰/۶) با $p < 0.001$ نشان داد. طبق نتایج بین گروه مورفین و گروه دریافت کننده دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم عصاره در فاز مزمن فرمالین تفاوت معنی داری وجود نداشت. همچنین سمیت حاد (LD50) عصاره گیاه ۳۴۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم بود.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره هیدروالکلی برگ گیاه گل حساس دارای اثرات ضد دردی (در هر دو مدل درد حاد و مزمن) می باشد.

واژه های کلیدی: عصاره متانولی، ضد درد، گل حساس، فرمالین.

مقدمه

درد یکی از مشکلات اصلی و اساسی در جوامع امروزی بوده و وجود آن، احساس ناخوشایندی است که انسان را وادار می کند برای مقابله با آن از روشهای مختلف درمانی استفاده نماید (۱). امروزه برای کنترل درد بیشتر از داروهای ضدالتهاب غیر استروئیدی و یا داروهای اویپوئیدی استفاده می شود، اما این داروها دارای عوارض جانبی نسبتاً زیادی بوده و با وابستگی همراه هستند که در مجموع باعث شده است 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 منشأ 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). گیاه گل حساس با نام علمی *Biophytum sensitivum* L.

نام رایج درخت زندگی، جزئی از خانواده اگزالیداسه (Oxalidaceae) می باشد. این گیاه یکساله و کوچک، دارای برگ هایی حساس به طول ۱۵-۵ سانتی متر و نیز دارای ۶ تا ۱۲ برگچه، گل های زرد رنگ و میوه کیسول می باشد. درجه حرارت بهینه به منظور رشد این گیاه ۲۹-۱۶°C است. این گیاه در مناطق گرم جنوب آسیا، هند، مناطق شمالی ایران نظیر گرگان، آفریقا و ماداگاسکار و عمدتاً در زیر سایه درختان می روید. برگ های آن به دلیل وجود ترکیبی به نام ترگرین (*turgorin*) در پاسخ به ضربه، تماس، گرما، باد و باران جمع می شوند (۶و۷). در طب سنتی از آن در درمان سوزاک، هیپوترئیدیسم، تب، اسهال و صرع استفاده می شود. برگ آن همراه با آب اثر دیورتیک داشته و برطرف کننده تشنگی ناشی از تب زرد می باشد. همچنین در فیلیپین از جوشانده برگ آن به عنوان اکسپکتورانت و نیز در درمان آسم استفاده می شود و ترکیب جوشانده آن با عسل، در التیام سرماخوردگی و درد قفسه سینه موثر است (۸). در طب نوین نیز تاکنون اثرات ضداکسیدانی (۹)، ضدالتهابی (۱۰-۱۲)، ضدیبستی (۱۳و۱۴)، ضدآنژیوتنژ (۱۵)، ضدسرطانی (۱۶-۱۸) و نیز اثرات حفاظتی در برابر پرتوهای رادیویی (۱۹) این گیاه به اثبات رسیده است. بر اساس ادعای طب سنتی پیرامون

این مقاله حاصل پایان نامه سعید محمدی دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان می باشد.

* مسئول مقاله: سعید محمدی

آدرس: همدان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، دانشکده علوم پایه، گروه بیولوژی، تلفن: ۰۸۱۱-۲۵۱۶۳۵۲

E-mail: mohammadi.saeed53@gmail.com

ای که هر دو پای موش کاملاً کشیده گردد) به مدت ۳۰ دقیقه شمارش گردید (۲۱).

تست تیل فلیک: این آزمایش با استفاده از دستگاه تیل فلیک، مدل تی اف-۵۵۰۰ ساخت شرکت برج صنعت ایران انجام گرفت. آزمون بر اساس مدل ارائه شده قبلی انجام شد (۲۲). شدت نور مورد استفاده برابر با ۷ (درجه روی دستگاه) بود و از مدت زمان مرجع ۱۰ ثانیه به عنوان حداکثر زمان در نظر گرفته شده برای سطح تحمل موش ها (cut off time) استفاده شد. یعنی چنانچه حیوان تا مدت ۱۰ ثانیه پس از تابش نور سوزان، دم خود را نمی کشید، به منظور جلوگیری از آسیب بافتی، محرک قطع می شد.

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 و ۲۰ دقیقه بعد از تزریق دارو یا عصاره اندازه گیری شده و میانگین آنها به عنوان زمان تاخیر قبل و بعد از دارو محسوب و با استفاده از فرمول درصد اندکس ضد دردی که در ذیل آورده شده است محاسبه گردید:

$$\text{Analgesia index} = \frac{\text{Test Latency-Control Latency}}{\text{Cut off time-Control Latency}} \times 100$$

تست فرمالین: در این آزمایش از مدل پیشنهادی Dubaïsson و Dennis به منظور ارزیابی درد مزمن استفاده شد (۲۳). 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 گرفت. ۳۰ دقیقه پس از تزریق درون صفاقی داروها، ۵۰ میکرولیتر فرمالدئید ۲/۵ درصد به کف پای راست حیوان به صورت زیرجلدی تزریق شد و حیوان مجدداً به جعبه مخصوص تست برگردانده شد و رفتار حیوان مورد بررسی قرار گرفت و 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 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 (فاز حاد) و میانگین دقایق ۶۰-۱۵ تست به عنوان فاز دوم تست فرمالین (فاز مزمن) محسوب شد (۲۳).

تعیین دوز کشنده (LD50):

تعیین سمیت حاد بر اساس مدل آزمایشگاهی به انجام رسید (۲۴). دوزهای مختلف عصاره به صورت درون صفاقی و مجزا به موش های صحرایی نر تزریق شدند. میزان مرگ و میر حیوانات تا ۷۲ ساعت بعد از تزریق شمارش گردید و LD₅₀ عصاره گیاه تعیین گردید.

اثرات گل حساس و نیز ارتباط فرآیندهای التهابی با درد و نیز به دلیل عدم وجود مطالعات معتبر علمی در زمینه بررسی اثر ضد دردی آن، در این مطالعه برای اولین بار به بررسی اثر ضد دردی احتمالی و سمیت حاد عصاره هیدروالکلی برگ گیاه گل حساس در موش صحرایی نر پرداخته شد.

مواد و روشها

حیوانات: به منظور انجام این مطالعه تجربی، 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 ساعت ۷:۰۰ صبح)، شرایط دمایی ۲۲±۱ درجه سانتی گراد) و رطوبت نسبی ۵۵-۵۰ درصد نگهداری شدند. حیوانات با دسترسی آزاد به آب و غذای مخصوص در قفس های فلزی نگهداری می 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 و طبق دستورالعمل های اخلاقی انجمن بین المللی مطالعه درد در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام شد (۲۰). حیوانات در ۷ گروه ۶ تایی شامل: گروه کنترل (تحت اثر نرمال سالین)، گروه تحت اثر مرفین (۱ میلی گرم بر کیلو گرم)، گروه تحت اثر اسپیرین (۱ میلی گرم بر کیلو گرم)، اثر گروه های تیمار شده با دوزهای کم، متوسط و زیاد گیاه گل حساس (به ترتیب به مقدار ۸۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم) و گروه تیمار شده با نالوکسان (۱ میلی گرم بر کیلو گرم) به همراه دوز متوسط عصاره (۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم) تقسیم شدند.

آماده سازی عصاره: مقدار ۱ کیلوگرم برگ تازه گیاه گل حساس در مرداد ماه سال ۱۳۹۲ تهیه و سپس توسط گیاه شناس دانشگاه بوعلی سینا همدان مورد تایید قرار گرفت. پس از جداسازی دمبرگ ها، برگ های گل حساس در دمای اتاق (۲۵ درجه) و در سایه خشک گردید. سپس توسط آسیاب مکانیکی به صورت پودر خشک در آمد. مقدار ۱۰۰ گرم از پودر برگ خشک شده گیاه در یک لیتر متانول ۸۰ 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 حلال 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 رت های نر با دوزهای مختلف عصاره در مقدار مناسب سرم فیزیولوژی (کلرو سدیم ۰/۹ درصد) حل شد.

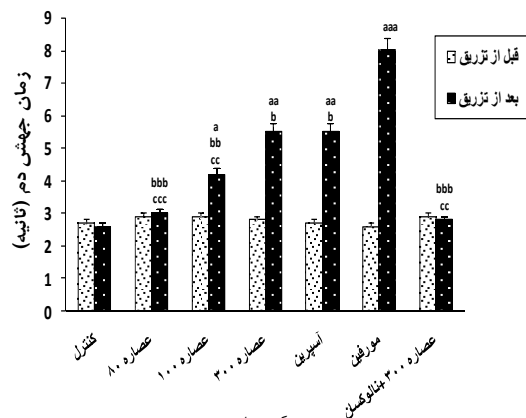
داروها: مرفین سولفات، نالوکسان و اسپیرین، از دارو پخش (ایران) و اسید استیک و فرمالین از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

آزمون های درد:

تست رایتینگ: در روز آزمایش به منظور عادت کردن حیوانات به محیط، هر یک از آنها ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش در جعبه استاندارد شیشه ای مذکور قرار داده شدند. عصاره هیدروالکلی برگ گیاه مذکور در مقادیر مشخصی از سرم فیزیولوژیک استریل حل و با دوزهای ۸۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی تزریق گردید. پس از گذشت ۱۵ دقیقه اسید استیک به حجم ۰/۱ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن با غلظت ۰/۶ درصد تزریق شد و ۵ دقیقه پس از تزریق درون صفاقی اسید استیک، تعداد انقباضات شکمی (به گونه

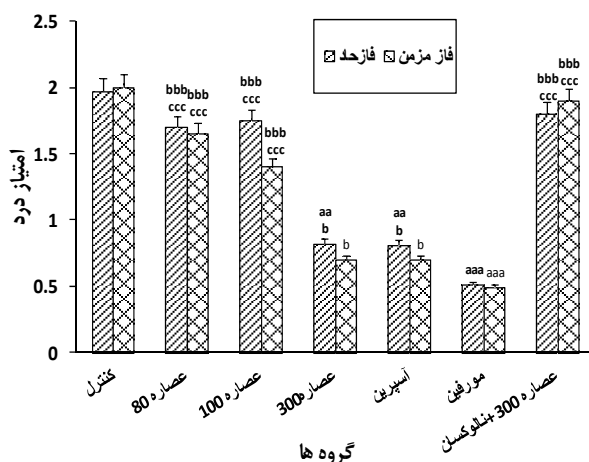
آسپیرین و مورفین نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی داری را نشان داد به ترتیب با: $p < 0.01$ و $p < 0.001$ (نمودار ۳).

۴. دوز کشنده ۵۰ درصد: میزان دوز کشنده ۵۰ درصد عصاره به صورت داخل صفاقی ۳۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بود.



نمودار ۲. مقایسه میانگین غلظت های مختلف عصاره در تست تیل فلیک.

دار با گروه مورفین $p < 0.05$ ، $p < 0.01$ ، $p < 0.001$ اختلاف معنی دار با گروه کنترل. اختلاف معنی دار با گروه آسپیرین $p < 0.05$ ، $p < 0.01$ ، $p < 0.001$.



نمودار ۳. مقایسه میانگین نمره درد موش صحرایی نر با غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه گل حساس در آزمون فرمالین.

دار با گروه مورفین $p < 0.05$ ، $p < 0.01$ ، $p < 0.001$ اختلاف معنی دار با گروه کنترل. اختلاف معنی دار با گروه آسپیرین $p < 0.05$ ، $p < 0.01$ ، $p < 0.001$.

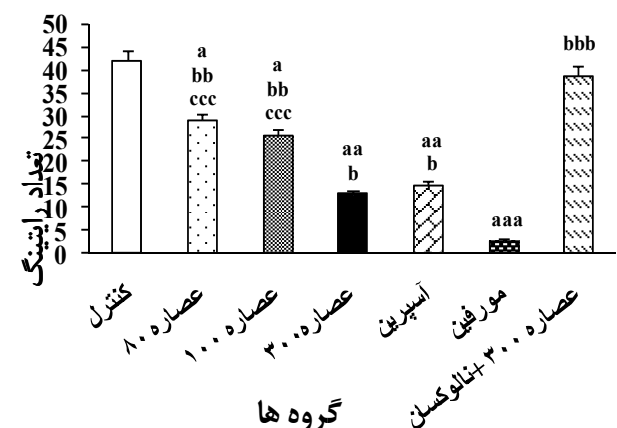
بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد 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 (۲۶ و ۲۵)، می توان پیشنهاد کرد که عصاره گل حساس دارای اثرات ضددردی مرکزی می باشد. تست تیل فلیک که در آن از تحریکات

تجزیه و تحلیل آماری: داده ها با استفاده از تحلیل واریانس یک طرفه و به دنبال آزمون توکی تجزیه و تحلیل شدند و $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

۱. تست رایتینگ: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تزریق دوزهای ۸۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی گل حساس در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان داد به ترتیب با: $p < 0.05$ ، $p < 0.01$ ، $p < 0.001$. بنابراین تعداد رایتینگ در گروه کنترل از ۴۲ عدد، به ۱۲ عدد در گروه عصاره ۳۰۰، کاهش یافت. همچنین مقایسه تعداد رایتینگ در بین گروه های مورفین و آسپیرین نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان داد به ترتیب با: $p < 0.01$ و $p < 0.001$ (نمودار ۱).



نمودار ۱. مقایسه میانگین تعداد رایتینگ موش صحرایی نر با غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه گل حساس در آزمون اسید استیک.

دار با گروه مورفین $p < 0.05$ ، $p < 0.01$ ، $p < 0.001$ اختلاف معنی دار با گروه کنترل. اختلاف معنی دار با گروه آسپیرین $p < 0.05$ ، $p < 0.01$ ، $p < 0.001$.

۲. تست تیل فلیک: در تست تیل فلیک تزریق دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی گل حساس در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری را نشان داد به ترتیب با: $p < 0.05$ و $p < 0.01$ بنابراین مدت زمان جهش دم از ۲/۶ ثانیه در گروه کنترل به ۵/۵ ثانیه در گروه عصاره ۳۰۰ افزایش یافت. از سویی تزریق مورفین، و آسپیرین نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی داری را نشان داد به ترتیب با: $p < 0.01$ و $p < 0.001$ (نمودار ۲).

۳. تست فرمالین: در تست فرمالین، تزریق دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره، آسپیرین و تزریق مورفین سبب کاهش نمره درد در فاز حاد این تست گردید به ترتیب با: $p < 0.01$ ، $p < 0.01$ و $p < 0.001$. این در حالی است که تزریق دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ عصاره، هر دو سبب کاهش معنی دار درد در فاز مزمن این تست شدند به ترتیب با: $p < 0.05$ و $p < 0.01$ بنابراین امتیاز درد از ۱/۹ در گروه کنترل به ۰/۷ در گروه دوز ۳۰۰ عصاره کاهش یافت. همچنین تزریق

حرارتی استفاده می شود، از مهم ترین پارامترها در ارزیابی فعالیت ضددردی می باشد (۲۲). در این تحقیق از تست های استاندارد رایتینگ، تیل فلیک و فرمالین به منظور بررسی اثر ضد دردی عصاره متانولی گیاه گل حساس استفاده گردید. یکی از مهم ترین تست هایی که به منظور غربالگری ترکیبات ضددردی احتمالی استفاده می شود، تست رایتینگ می باشد که در آن از اسید استیک استفاده می شود و نیز یک تحریک شیمیایی است که به طور گسترده به منظور ارزیابی فعالیت ضددردی محیطی استفاده می شود. در این مدل، به نظر می رسد که اثرات ضددردی محیطی گیاه گل حساس 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 (۲۷).

مزیت استفاده از مدل ارزیابی کننده درد فرمالین این است که می تواند ترکیباتی که از طریق مسیر درد مرکزی اثر می کنند را از درد محیطی تشخیص دهد (۲۸). تزریق زیر جلدی فرمالین سبب ایجاد دو فاز مختلف دردزا می شود. فاز اول، فاز نورونیک (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).

نتایج مطالعه همچنین نشان داد که عصاره گل حساس، 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 پروستاگلاندین های E_2 و $F_{2\alpha}$ شود که حداقل در برخی مقادیر می تواند باعث حساس سازی نورون های درد زای مرکزی شود (۳۰).

به منظور ارزیابی تداخل سیستم اویپوئیدی در اثر ضد دردی عصاره این گیاه از نالوکسان (یکی از داروهای آنتاگونیست سیستم اویپوئیدی) استفاده شد که از فعال شدن رسپتورهای اویپوئیدی جلوگیری می کند (۳۱ و ۳۲). در این نالوکسان موجب کاهش اثر ضددردی عصاره شد. بنابراین به نظر می رسد که اثر عصاره گیاه در تسکین درد، به واسطه گیرنده های اویپوئیدی باشد. مطالعات فیتوشیمیایی نشان داده که عصاره متانولیک برگ این گیاه دارای شماری از ترکیبات فنولیک و

پلی فنولیک، ساپونین ها، روغن های فرار، پلی ساکاریدها و پکتین می باشد. از دیگر ترکیبات آن می توان به ترکیبات فلاونوئیدی لوتئولین، کافئولیک اسید، ایزواوریتین، اوریتین، ایزوویتکسین و ایی کاتکین اشاره کرد (۳۳-۳۵). از این ترکیبات، لوتئولین دارای اثر ضد التهابی است و با توجه به ارتباط نزدیک فرایندهای التهابی با درد، احتمالا می تواند به عنوان ترکیبی ضد درد مطرح باشد (۳۶).

فلاونوئیدهای گوناگون قبلا گزارش تاثیر ضد التهابی و ضددردی داشته اند (۳۷-۳۹). نتایج نشان داده اند که فلاونوئیدها با مهار فعالیت گیرنده N-متیل-D-آسپاراتات، سبب کاهش کلسیم داخل سلولی می گردد و به دنبال آن فعالیت آنزیم سنتزکننده نیتریک اکساید و فسفولیپاز A_2 وابسته به کلسیم کاهش می یابد. 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 (۴۰). 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 سیکلواکسیژناز ۲ (COX-2) می گردند (۴۱ و ۴۲).

با توجه به نتایج این مطالعه، اثر ضد دردی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه گل حساس تایید 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 فلاونوئیدها 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 راهنمایی علمی دکتر پریچهر یغمایی و همکاری صمیمانه پرسنل آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه صمیمانه تشکر و قدردانی می گردد.

Antinociceptive Effect of Hydro-alcoholic Extract of Biophytum Sensitivum Leaf on Adult Male Rat

M. Mahmoodi (PhD)¹, S. Mohammadi (MSc)^{*1}, A. Yavari(MSc)²

1. Department of Biology, Hamadan Islamic Azad University, Hamadan, I.R.Iran.

2. Department of Biology, Payam noor University, Tehran, I.R.Iran.

J Babol Univ Med Sci; 16(10); Oct 2014; pp: 31-37

Received: Jan 28th 2014, Revised: Mar 6th 2014, Accepted: May 14th 2014.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Medicinal plants as the rich source of efficient compounds are largely used worldwide especially to treat pain and inflammatory processes by the population in traditional medicine. The aim of this study was to investigate the antinociceptive effect of hydro-alcoholic extract of Biophytum sensitivum leaf on male rats.

METHODS: In this study, 42 adult male rats were divided into 7 groups: Control, groups treated with the extract (80, 100 and 300mg/kg, i.p.), Morphine (1mg/kg, i.p.), Aspirin (1mg/kg, i.p.), and Naloxone (1mg/kg, i.p.) with a dose of 300mg/kg. The analgesic effects of extract were assessed with Writhing, Tail-flick and Formalin tests.

FINDINGS: Hydro-alcoholic extract of Biophytum sensitivum leaf at dose of 300mg/kg clearly indicated the antinociceptive effect in Writhing (with 30 decrease), tail-flick (3/9 seconds increase) with $p < 0.01$ and chronic phase of formalin (decrease of pain score from 2 to 0/6) ($p < 0.001$) tests. The results showed that there was no significant difference between the morphine and receiving extract (300mg/kg) groups in the chronic phase of formalin. In addition, LD50 of plant extract was 3400mg/kg.

CONCLUSION: This study suggested that the hydro-alcoholic extract of Biophytum sensitivum leaf had the antinociceptive effects on both acute and chronic pains.

KEY WORDS: *Hydro-alcoholic extract, Antinociception, Biophytum sensitivum, Formalin.*

Please cite this article as follows:

Mahmoodi M, Mohammadi S, Yavari A. Antinociceptive Effect of Hydro-alcoholic Extract of Biophytum Sensitivum Leaf on Adult Male Rat. J Babol Univ Med Sci 2014;16(10):31-7.

* Corresponding Author; S. Mohammadi (MSc)

Address: Department of Biology, Hamadan Islamic Azad University, Hamadan, Iran

Tel: +98 811 2516352

E-mail: mohammadi.saeed53@gmail.com

References

1. Goldman L, Bennett JC. Cecil textbook of medicine. 21st edit. ,Vol 1, WB SaundersCo. 2000, pp: 103 - 4.
2. Weiner RS. Pain management: A Practical Guide for Clinicians. 6rd ed. Florida: CRC Press LLC. 2001, 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):125-9.
5. Nafisy AT. A Review of Traditional Medicine in Iran. Isfahan University Publications, Isfahan, 1989; 8(11): 121.
6. Zargari A. Medicinal Plants, 5th ed. Tehran: Tehran University Publications; 1995; 4:42-5.
7. Leopold J, Gerhard B, Andrea W, Mohamed SP, Beena J. Medicinally used plants from India: Analysis of the essential oil of air-dried *Biophytum sensitivum* (L.) DC. Sci Pharm 2004;72(1):87-96.
8. Joy PP, Thomas J, Mathew S, Skaria BP. Medicinal Plants: Tropical Horticulture. Bose TK, Kabir J, Das P, Joy PP, editor. Calcutta: Naya Prakash; Vol. 2. 2001. p. 449-632.
9. Guruvayoorappan C, Afira AH, Kuttan G. Antioxidant potential of *Biophytum sensitivum* extract in vitro and in vivo. J Basic Clin Physiol Pharmacol 2006;17(4):255-67.
10. Bucar F, Jachak SM, Noreem Y, Karting T, Perera P, Bohlin L, et al. Amentoflavone from *Biophytum sensitivum* and its effect on COX-1/COX-2 biosynthesis. Planta Med 1998;64(4):373-4.
11. Banerjee T, Van der Vliet A, Ziboh VA. Downregulation of COX-2 and iNOS by amentoflavone and quercetin in A549 human lung adenocarcinoma cell line. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2002; 66(5-6):485-92.
12. Jachak SM, Bucar F, Kartnig T. Antiinflammatory activity of extracts *Biophytum sensitivum* in carrageen induced rat paw oedema. Phytother Res 1999; 13(1):73-4.
13. Puri D. The insulintropic activity of a Nepalese medicinal plant *Biophytum sensitivum*: Preliminary experimental study. J Ethnopharmacol 2001; 78(1):89-93.
14. Puri D. Screening of mildly hypoglycaemic compounds: Obese British Angora rabbits with borderline glucose intolerance as animal model. Indian J Pharm Sci 2006; 68(5):579-83.
15. Guruvayoorappan C, Kuttan G. Inhibition of tumour specific angiogenesis by amentoflavone . Biochemistry (Mosc) 2008;73(2):209-18.
16. Guruvayoorappan C, Kuttan G. Amentoflavone stimulates apoptosis in B16F-10 melanoma cells by regulating bcl-2, p53 as well as caspase-3 genes and regulates the nitric oxide as well as proinflammatory cytokine production in B16F-10 melanoma cells, tumour associated macrophages and peritoneal macrophages. J Exp Ther Oncol 2008; 7(3):207-18.
17. Guruvayoorappan C, Kuttan G. Amentoflavone Inhibits Experimental Tumor Metastasis Through a Regulatory Mechanism Involving MMP-2, MMP-9, Prolyl Hydroxylase, Lysyl Oxidase, VEGF, ERK-1, ERK-2, STAT-1, nm23 and Cytokines in Lung Tissues of C57BL/6 mice. Immunopharmacol Immunotoxicol 2008; 30(4):711-27.
18. Guruvayoorappan C, Kuttan, G. Anti-metastatic effect of *Biophytum sensitivum* is exerted through its cytokine and Immunomodulatory activity and its regulatory effect on the activation and nuclear translocation of transcription factors in B16F-10 melanoma cells. J Exp Ther Oncol 2008; 7(1):49-63.
19. Guruvayoorappan C, Kuttan G. Protective effect of *Biophytum sensitivum* (L.) DC on radiation-induced damage in mice. Immunopharmacol Immunotoxicol 2008;30(4):815-35.
20. Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. Pain 1983; 16(2): 109-11.

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 chemother* 1968; 32(2): 295–310.
22. D'Amour FE, Smith DL. A method of determining loss of pain sensation. *J Pharmacol Exp Ther* 1941; 7(1): 74–9.
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(2): 161–74.
24. Lorke D. A new approach to practical acute toxicity testing. *Arch Toxicol* 1983; 54(4):275–87.
25. Jensen TS, Yaksh TL. Comparison of antinociceptive action of morphine in the periaqueductal gray, medial and paramedial medulla in rat. *Brain Res* 1986;363(1):99–113.
26. Le Bars D, Gozariu M, Cadden S. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev* 2001; 53(4):628–51.
27. 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.
28. Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain* 1992;51(1):5-17.
29. Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, Inoki R. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. *Pain* 1989;38(3):347–52.
30. Verma PR, Joharapurkar AA, Chatpalliwar VA, Asnani A. Antinociceptive activity of alcoholic extract of *Hemidesmus indicus* R.Br. in mice. *J Ethnopharmacol* 2005;102(2):298–301.
31. Vaccarino AL, Tasker RA, Melzack R. Analgesia produce by normal doses of opioid antagonists alone and in combination with morphin. *Pain* 1989;36(1):103-9.
32. Borrás MC, Becerra L, Ploghaus A, Gostic JM, Dasilva A. Gonzalez RG, et al. FMRI measurement of cns responses to naloxone infusion and subsequent mild noxious thermal stimuli in healthy volunteers. *J Neurophysiol* 2004; 91(6):2723-33
33. Bucar F, Jachak SM, Noreem Y, Karting T, Perera P, Bohlin L, et al. Catalysed prostaglandin M. Amentoflavone from *Biophytum sensitivum* and its effect on COX-1/COX-2biosynthesis. *Planta Med*1998;64:373-4.
34. Yun-Lian L, Wan-Yi W. Chemical constituents of *Biophytum sensitivum*.*Chin Pharm J (Taipei, Taiwan)* 2003; 55(1):71-5. [chaina]
35. Bucar F, Jachak SM, Kartnig T, Schubert-Zsilavec M. Phenolic compounds from *Biophytum sensitivum*. *Pharmazie* 1998;53(9):651-3.
36. Ziyen L, Yongmei Z, Nan Z, Ning T, Baolin L. Evaluation of anti-inflammatory activity of luteolin in experimental animal models. *Planta Med* 2007; 73(3): 221-6.
37. Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AA, Capasso F. Flavonoids, old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci* 1999;65(4):337–53.
38. Simoes CM, Schenkel OE, Bauer P, Langeloh LA. Pharmacological investigations on *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC, Compositae. *J Ethnopharmacol*, 1988; 22(3):293-81.
39. Alcaraz MJ, Hoult JR. Action of flavonoids and the novel anti-inflammatory flavone, Hypolaetin-8-Glucoside, on prostaglandin biosynthesis and inactivation. *Biochem Pharmacol* 1985; 34(14):2477-82.
40. Toker G, Kupeli E, Memisoglu M, Yesilada E. Flavonoids with antinociceptive and anti-inflammatory activities from the leaves of *Tilia argentea* (silver linden). *J Ethnopharmacol* 2004; 95(2-3):393-7.
41. De Araújo PF, Coelho-de-Souza AN, Morais SM, Ferreira SC, Leal-Cardoso JH.. Antinociceptive effects of the essential oil of *Alpinia zerumbet* on mice. *Phytomedicine* 2005; 12(6-7): 482-6.
42. Suh N, Honda T, Finlay HJ, Barchowsky A, Williams C, Benoit NE, et al. Novel triterpenoids suppress inducible nitric oxide synthase (iNOS) and inducible cyclooxygenase (COX-2) in mouse macrophages. *Cancer Res* 1998; 58(4):717–23.