مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره هجدهم، شماره ۱۲، آذر ۱۳۹۵، صفحه ۵۷-۶۳

بررسی اثرات ضد دردی و ضد التهابی عصاره هیدروالکلی گیاه زنجبیل شامی (Inula helenium) در موش صحرایی نر

علیرضا فلاح زاده (PhD)[۱]، سعید محمدی (PhD)[۲*]

۱-مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
۲-گروه زیست شناسی، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی

دریافت: ۹۵/۵/۲۴، اصلاح: ۹۵/۷/۶، پذیرش: ۹۵/۹/۶

خلاصه

سابقه و هدف: گیاه زنجبیل شامی گیاهی دارویی است که تاکنون اثرات ضد سرطانی، ضد میکروبی و ضد قارچی آن به اثبات رسیده است. هدف از این مطالعه بررسی اثر ضددردی و ضد التهابی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه زنجبیل شامی در موش صحرایی نر می باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی از ۶۶ سر موش صحرایی نر استفاده شد. در آزمون های ارزیابی کننده درد، حیوانات به ۶ گروه ۶ تایی شامل: کنترل، گروه‌های تیمار شده با عصاره (۱۰۰،۳۰۰ mg/kg و ۵۰)، مورفین و نیز نالوکسان به همراه دوز ۳۰۰ mg/kg عصاره تقسیم شدند. در تست ضد التهابی نیز حیوانات به ۵ گروه ۶ تایی شامل: کنترل، عصاره (۱۰۰ ،۵۰ mg/kg و ۱۰) و دگزامتازون تقسیم شدند. به منظور ارزیابی درد از تست های تیل-فلیک، ریتینگ و فرمالین و به منظور بررسی التهاب از تست گزیلن استفاده شد.

یافته‌ها: استفاده از دوز ۳۰۰ mg/kg عصاره در تست های ریتینگ (۱/۳۴±۲۸/۲۱) و تیل-فلیک (با ۱/۳۴±۵/۱۱) سبب ایجاد اثر ضددردی معنی داری (p<۰/۰۱) نسبت به گروه کنترل (۴/۱۲±۴۱/۲۲) گردید. در تست فرمالین نیز دوز ۱۰۰ mg/kg عصاره توانست در فاز مزمن سبب کاهش امتیاز درد از ۰/۲۱±۲/۱۷ در گروه کنترل به ۰/۲۴±۰/۵۳ شود (p<۰/۰۵). همچنین در تست گزیلن استفاده از دوز های ۱۰۰و۵۰ mg/kg میزان التهاب گوش موش ها را به ترتیب با ۲±۴/۱ و ۱±۳/۳ نسبت به گروه کنترل(۷/۶±۰/۴) کاهش داد (p<۰/۰۰۱، p<۰/۰۱).

نتیجه گیری: به نظر می رسد عصاره هیدروالکلی برگ گیاه زنجبیل شامی احتمالا دارای اثرات ضد دردی و نیز اثر ضد التهابی باشد.

واژه‌های کلیدی: التهاب، درد، زنجبیل شامی، گیاهان دارویی.

مقدمه

درد یکی از مشکلات اصلی و اساسی در جوامع امروزی بوده و علی‌رغم آن که هشداری برای آسیب‌های بافتی است، وجود درد احساس ناخوشایندی است که انسان را وادار می‌کند برای مقابله با آن از روش‌های مختلف درمانی استفاده نماید (۱). 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 است که انسان به دنبال داروهای جدیدتری باشد تا علاوه بر داشتن عوارض جانبی کمتر، ارزان و در دسترس هم باشند (۲). التهاب نیز از جمله عوارض شایع بسیاری از بیماری‌ها است که موجب تضعیف سیستم ایمنی بدن، ایجاد عفونت و تاخیر در بهبود بیماری‌ها می‌گردد. فرایندهای التهابی وابستگی شدیدی با درد دارند چنانچه مواد شیمیایی آزاد شده در طی فرایند التهاب می توانند گیرنده های درد را بیشتر تحریک کرده و منجر به درد التهابی شوند (۳). گیاهان دارویی منبع مهمی از مواد شیمیایی جدید، با اثرات درمانی بسیار قوی می باشند (۴). استفاده از گیاهان دارویی به منظور درمان درد و التهاب در طب سنتی ایران نوعی رسم و عادت می‌باشد حال آنکه در بیشتر موارد منشا و اساس فعالیت این گیاهان ناشناخته مانده است. لیکن ارزیابی این گیاهان می تواند به عنوان یک راهبرد پژوهشی منطقی به منظور یافتن داروهای جدید باشد (۵و۶). جنس Inula، گیاهانی چندساله هستند که گسترش وسیعی را از آسیا و اروپا تا آفریقا و به طور ویژه در مدیترانه و جنوب آسیا در بر گرفته اند. این جنس عضوی از خانواده Asteraceae می باشد (۷). تعداد زیادی از گیاهان متعلق به این جنس دارای خواص درمانی هستند که از میان آن ها زنجبیل شامی یکی از مهم ترین و پرمصرف ترین این گیاهان دارویی به شمار می آید (۸). زنجبیل شامی گیاهی است زیبا و پایا به ارتفاع ۲ متر و ریزوم غده ای بزرگ، ساقه ستبر داشته که در بخش بالایی منشعب می شود و کرکدار است. برگ های این گیاه بیضوی است و دندانه های ریزی دارد. این گیاه عمدتا در نواحی اطراف تهران، سواحل مازندران، اراک، حیدریه و همدان رشد می کند. به

▣ این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی با شماره ۱۱۰۵۶/۳۱/۱ دانشگاه آزاد اسامی واحد همدان می باشد.
*مسئول مقاله: دکتر سعید محمدی
آدرس: همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان، گروه زیست شناسی. تلفن: ۰۸۱-۱۲۵۱۸۰۶۴
E-mail: smiauhphd.sm@gmail.com

عربی به آن راسن گویند. در مطالعه ای که توسط Dorn و همکاران انجام شد، مشخص گردید. عصاره زنجبیل شامی دارای سمیت انتخابی بالایی در برابر سل لاین ها یا خط سلولی (HT-29، MCF-7، Capan-2 و G1) می باشد (۹). در طب سنتی نیز به اثرات دارویی بی نظیر این گیاه اشاراتی شده که از آن جمله می توان به: به خواص ضد باکتریایی، خلط اوری، سرفه آوری، محرک عرق، اشتها آور و ضد التهاب اشاره نمود(۱۱و ۱۰).

در سال های اخیر اثرات ضد دردی و ضد التهابی گیاهان دارویی مختلفی از جمله: *Tribulus terrestris*(۱۲)، *Pimpinella anisum*(۱۳) و *Bryonia dioica* (۱۴) با استفاده از تست های استاندارد تیل فلیک، ریتینگ و فرمالین به اثبات رسیده است. همچنین در مطالعه ای که توسط Arumugam و همکاران انجام شد مشخص گردید عصاره آبی گیاه Inula racemosa، که عضوی از خانواده آستراسه می باشد دارای اثرات ضد دردی و ضد التهابی است(۱۵).

با توجه به اینکه ترکیبات ضددردی رایجی چون مورفین از گیاهان دارویی مشتق شده است(۱۶) و نظر بر ادعای طب سنتی مبنی بر اثر ضد التهابی این گیاه و ارتباط شدید مکانیسم های التهابی با درد، در این مطالعه اثرات ضد التهابی و ضد دردی احتمالی گیاه زنجبیل شامی با استفاده از تست های معتبر گزیلن، ریتینگ، فرمالین و تیل فلیک در موش های صحرایی نر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

آماده سازی عصاره: در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی مقدار ۴ کیلوگرم برگ تازه گیاه زنجبیل شامی در مرداد ماه سال ۱۳۹۵ تهیه و سپس توسط گیاه شناس دانشگاه بوعلی سینا همدان مورد تایید قرار گرفت. پس از جداسازی دمبرگ ها، برگ های زنجبیل شامی 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 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 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 رت های نر با دوزهای مختلف عصاره در مقدار مناسب سرم فیزیولوژی (کلرو سدیم ۰/۹ درصد) حل شد.

حیوانات: ۶۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (۲۲۰–۲۵۰ 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) نگهداری شدند. حیوانات با دسترسی آزاد به آب و غذای مخصوص در قفس های فلزی نگه داری شدند. آزمایشات بر طبق دستورالعمل های اخلاقی انجمن بین المللی مطالعه درد در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام شد (۱۷).

در تست ارزیابی درد حیوانات در۶ گروه ۶ تایی شامل گروه کنترل (تحت اثر نرمال سالین)، گروه تحت اثر مرفین (۱میلی گرم بر کیلو گرم)، گروه های تیمار شده با دوزهای کم، متوسط و زیاد گیاه زنجبیل شامی (به ترتیب به مقدار ۵۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم) و گروه تیمار شده با نالوکسان (۱میلی گرم بر کیلو گرم) به همراه دوز بالای عصاره (۳۰۰میلی گرم بر کیلو گرم) تقسیم شدند. در تست ضد التهابی گزیلن نیز حیوانات به ۵ گروه ۶ تایی شامل: گروه کنترل، عصاره (۵۰، ۱۰۰ و ۱۰ میلی گرم بر کیلو گرم) و دگزامتازون تقسیم شدند.

تست التهاب: در این تست حیوانات به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. گروه کنترل نرمالین سالین دریافت کردند. گروه کنترل مثبت دگزامتازون را با دوز ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان دریافت نمودند. گروه های دریافت کننده عصاره هر کدام یکی از دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم را به صورت درون صفاقی ۱۵ دقیقه قبل از تست دریافت کردند و بعد از تست التهاب با استفاده از تجویز گزیلن در گوش ان ها به عمل آمد. چنانچه دو ساعت بعد از تجویز گزیلن حیوانات کشته شدند و هر دو گوش حیوان را جدا کرده و با استفاده از چوب پنبه سوراخ کن، برش های ۷ میلی متری از دو گوش چپ و راست گرفته شد و وزن گردید و اختلاف وزن برش های دو گوش چپ و راست مشخص شد. این اختلاف وزن میزان التهاب را نشان می دهد و هر چه تفاوت وزن دو گوش بیشتر باشد میزان التهاب نیز بیشتر است(۱۸).

آزمون های درد:

تست ریتینگ: در روز آزمایش به‌منظور عادت کردن حیوانات به محیط، هریک از آنها ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش در جعبه استاندارد شیشه ای مذکور قرار داده شدند. ابتدا سرم فیزیولوژیک، عصاره هیدروالکلی برگ گیاه مذکور حل شده در سرم فیزیولوژیک استریل با دوزهای ۵۰ و۱۰۰و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم 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 شمارش گردید (۱۹). در گروه کنترل نیز بعد از تزریق سالین به صورت درون صفاقی، تست انجام شد.

تست تیل فلیک: این آزمایش با استفاده از دستگاه پرش‌دم، مدل TF-۵۳۸۰ ساخت شرکت برج صنعت ایران انجام گرفت. آزمون بر اساس مدل ارائه شده قبلی انجام شد (۲۰). 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 شده و میانگین آن به عنوان زمان تاخیر قبل از دارو محسوب و ثبت گردید. 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 یک جعبه مخصوص که 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، استفاده شد. 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 به این صورت 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(۲۱).

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

تجزیه و تحلیل آماری: داده ها به صورت میانگین خطای استاندارد از میانگین mean±S.E.M ارائه شده و از تحلیل واریانس یک طرفه استفاده گردید و به دنبال آن از آزمون توکی استفاده شد و $p<۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

تست گزیلن: بررسی ها نشان داد که عصاره این گیاه در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به طور معنی داری($p<۰/۰۱$، $p<۰/۰۰۱$) سبب کاهش التهاب به ترتیب با ۴/۱±۲ و ۳/۳±۱ نسبت به گروه کنترل با ۷/۶±۰/۴ شد. دوز۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره با درصد مهار ۴۹.۷٪ توانست تقریبا همانند دگزامتازون میزان التهاب را نسبت به گروه کنترل کاهش دهد ($p<۰/۰۱$) (جدول ۱).

جدول ۱. اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی زنجبیل شامی و دگزامتازون بر التهاب ناشی از گزیلن در موش های صحرایی

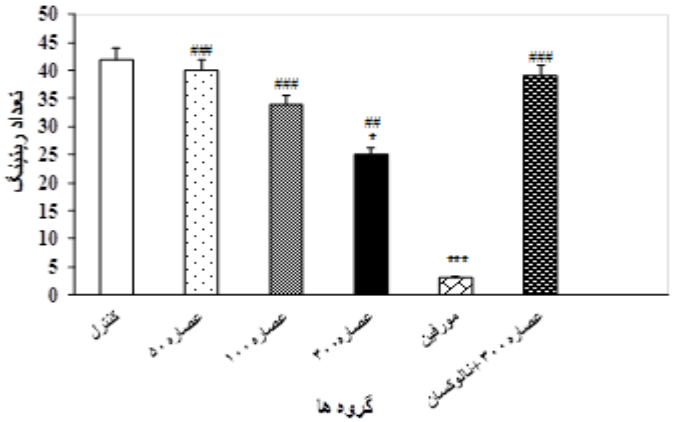
گروه ها	التهاب گوش موش	درصد مهار
کنترل (۱۰mg/kg)	۷/۶±۰/۴	
دوز کم عصاره (۱۰mg/kg)	۶/۴±۰/۱	۱۵/۹
دوز متوسط عصاره (۵۰mg/kg)	*۴/۱±۰/۸	۳۴/۲
دوز زیاد عصاره (۱۰۰mg/kg)	**۳/۳±۱	۴۹/۷
دگزامتازون (۱۵mg/kg)	***۳/۲±۰/۳	۵۶/۲

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

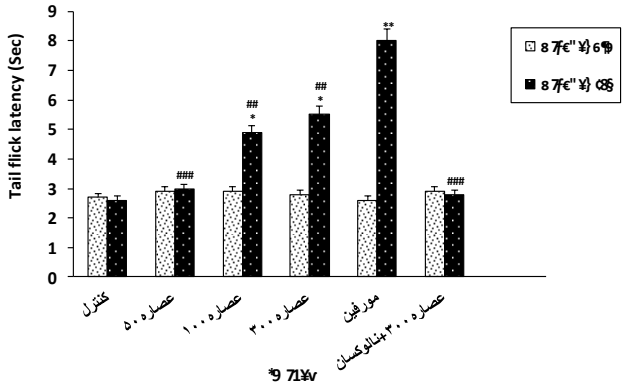
تست ریتینگ: نتایج مطالعه در تست ریتینگ نشان داد که تزریق دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره با ۳۲/۴۱±۱/۵۱ سبب کاهش تعداد ریتینگ (انقباضات شکمی موش) نسبت به گروه کنترل با ۴۱/۲۲±۴/۱۲ گردید ($p<۰/۰۵$). همچنین استفاده از دوز بالای عصاره یعنی دوز ۳۰۰ میلی گرم برکیلوگرم با ۲۸/۲۱±۱/۳۴ سبب کاهش تعداد ریتینگ نسبت به گروه کنترل با ۴۱/۲۲±۴/۱۲ 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 تعداد انقباضات شکمی نسبت به گروه کنترل گردید($p<۰/۰۰۱$). از سویی استفاده از دوز ۳۰۰ عصاره در مقایسه با گروه مورفین نشان از تفاوت معنی دار در سطح $p<۰/۰۱$ داشت (نمودار ۱).

تست تیل فلیک: در تست تیل فلیک استفاده از دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم عصاره اثر ضد دردی معنی داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد ($p<۰/۰۵$) و مدت زمان عکس العمل پرش دم در موش (Tail-flick Latency) را از ۲/۲۱±۱/۱۸ ثانیه به ۵/۱۱±۱/۳۴ ثانیه رساند. این در حالی است که استفاده از دوزهای ۵۰ 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±۱/۱۳ ثانیه در گروه کنترل به ۸/۱±۴/۳۴ ثانیه گردید ($p<۰/۰۱$) (نمودار۲).

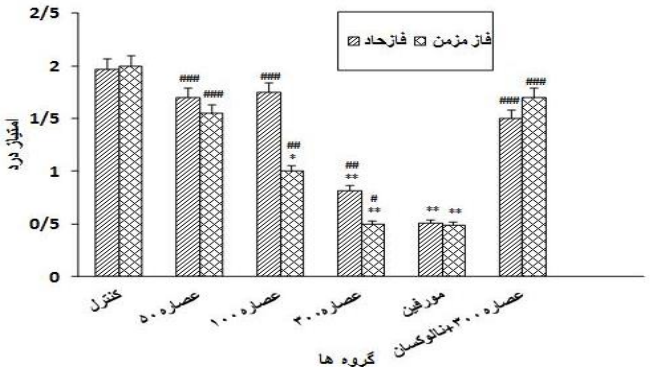
تست فرمالین: نتایج حاصل از این تست نشان داد که تزریق دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم عصاره در فاز مزمن درد اثر ضد دردی معنی داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد($p<۰/۰۵$) چنانچه امتیاز درد را از ۲/۱۷±۰/۲۱ واحد در گروه کنترل به ۰/۹±۴/۷۱ واحد رساند. استفاده از این دوز در فاز حاد درد اثر ضد دردی معنی داری را 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($p<۰/۰۱$) و امتیاز درد را به ۰/۷±۰/۲۱ در مقایسه یا گروه کنترل کاهش داد. در این تست نیز استفاده توام عصاره با دوز بالا به همراه نالوکسان اثرات ضد دردی را برعکس نمود(نمودار ۳).



نمودار ۱. مقایسه میانگین تعداد ریتینگ موش صحرایی نر با غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه زنجبیل شامی در آزمون اسید استیک. $^{*}p<۰/۰۵$، اختلاف معنی دار با گروه کنترل. $^{\#\#\#}p<۰/۰۵$، $^{\#\#}p<۰/۰۱$ اختلاف معنی‌دار با گروه مورفین.



نمودار ۲. مقایسه میانگین غلظت های مختلف عصاره در تست تیل فلیک. $^{*}p<۰/۰۵$، $^{**}p<۰/۰۱$. اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل. $^{\#\#}p<۰/۰۱$، $^{\#\#\#}p<۰/۰۰۱$ اختلاف معنی دار با گروه مورفین.



نمودار ۳. مقایسه میانگین نمره درد موش صحرایی نر با غلظت های مختلف عصاره ی برگ گیاه زنجبیل شامی در آزمون فرمالین. $p<۰/۰۵^{*}$، $p<۰/۰۱^{**}$در مقایسه با گروه کنترل. $p<۰/۰۵^{\#}$، $p<۰/۰۵^{\#\#}$ اختلاف معنی دار با گروه مورفین

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه مشخص شد که گیاه زنجبیل شامی دارای اثرات ضد دردی مرکزی و محیطی و نیز اثر ضدالتهابی است. در مطالعه ای 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(۲۲). همچنین در مطالعه دیگری که توسط Barros و همکاران انجام گرفت اثر ضد دردی عصاره گیاه Pluchea quitoc با استفاده از تست اسیداستیک به اثبات رسید (۲۳).

در تحقیق حاضر نیزعصاره هیدروالکلی گیاه زنجبیل شامی 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 زنجبیل شامی 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 نورونهای دردزای محیطی در ارتباط می باشند (۲۴). در مطالعه Arambewela و همکاران مشخص شد عصاره گیاه *Alpinia calcarata* با دوز متوسط سبب کاهش درد می گردد(۲۵). نتایج مطالعه حاضر 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 (۲۰)، می توان پیشنهاد کرد که عصاره زنجبیل شامی 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 (۲۶).

در مطالعه ای که توسط 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 می‌کنند (۲۷). نتایج حاصله نشان می دهد که عصاره زنجبیل شامی، 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 $F_{2\alpha}$ و E_2 شود که حداقل در برخی مقادیر می تواند باعث حساس سازی نورون های درد زای مرکزی شود (۲۸).

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 (۲۹). نتایج این مطالعه نشان می دهد 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. از جمله ترکیبات شیمیایی مهم این گیاه نیز می توان به فلاونوئیدها، مونوترپن ها، سسکویی ترپن ها و دی ترپن ها اشاره نمود (۳۰). در مطالعه ای که توسط Zhang و همکاران انجام پذیرفت مشخص شد که ترکیب سسکوترپنوئیدی موجود در این گیاه سبب کاهش مقادیر نیتریک اکساید می شود (۳۱). طبق نتایج حاصل از پژوهش حاضر، عصاره هیدروالکی گیاه زنجبیل شامی سبب کاهش میزان التهاب گردید که احتمالا یکی از مکانیسم های کاهنده التهاب از طریق مهار میانجی التهابی نیتریک اکساید صورت پذیرفته است. باتوجه به نتایج این مطالعه، عصاره توانست التهاب را مهار کند که احتمالا این اثر ضد التهابی عصاره از طریق مهار سیکلواکسیژنازها به خصوص سیکلواکسیژناز نوع- ۲ وپروستاگلاندین E_2 در سیستم عصب مرکزی گردیده است (۳۲). همانطور که اشاره شد زنجبیل شامی دارای ترکیبات فیتوشیمیایی مهمی چون فلاونوئیدها می باشد. فلاونوئیدهای گوناگون اثرات ضدالتهابی و ضددردی فراوانی دارند (۳۳). چنانچه فلاونوئیدها با مهار فعالیت گیرنده N–متیل–D–آسپارتات، سبب کاهش کلسیم داخل سلولی می‌گردند 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 (۳۴).

در یک نتیجه گیری کلی از آزمایش حاضر می توان دریافت که استفاده از عصاره هیدروالکلی برگ گیاه زنجبیل شامی سبب مهار التهاب و 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 ضد التهابی 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 آزاد همدان جهت حمایت از تحقیق و راهنمایی علمی دکتر محمد زارعی، تشکر و قدردانی می‌گردد.

An Investigation of the Antinociceptive and Anti-inflammatory Effects of Hydroalcoholic Extract of Inula Helenium on Male Rats

A.R. Fallahzadeh (PhD)[1], S. Mohammadi (PhD)[*2]

1.Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, I.R.Iran

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

J Babol Univ Med Sci; 18(12); Dec 2016; PP: 57-63

Received: Aug 14th 2016, Revised: Sep 27th 2016, Accepted: Nov 26th 2016.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Inula helenium is a medicinal plant with proven anti-cancer, anti-microbial and anti-fungal effects. The aim of this study is to investigate the antinociceptive and anti-inflammatory effects of hydroalcoholic extract of Inula helenium leaf on male rats.

METHODS: 66 male rats were used in this experimental study. The animals were divided into 6 groups (each group consisted of 6 rats) for pain assessment tests: control group, groups treated with the extract (50, 100 and 300 mg/kg), morphine and naloxone in combination with 300 mg/kg extract. Furthermore, they were divided into 5 groups (each group consisted of 6 rats) for anti-inflammatory tests: control group, groups treated with the extract (10, 50 and 100 mg/kg) and dexamethasone. Tail-flick, rating and formalin tests were used to assess pain and xylene test was used to assess inflammation.

FINDINGS: According to the results of rating (28.21±1.34) and tail-flick (5.11±1.34) tests, using 300 mg/kg extract had significant antinociceptive effect ($p<0.01$) compared with control group (41.22±4.12). According to the formalin test, using 100 mg/kg extract decreased pain rating from 2.17±0.21 in control group to 0.53±0.24, in the chronic phase ($p<0.05$). According to the xylene test, using 50 and 100 mg/kg extract decreased the inflammation of the ear in rats (4.1±2 and 3.3±1, respectively) compared with control group (0.4±7.6) ($p<0.001$ and $p<0.01$).

CONCLUSION: Results of this study showed that hydroalcoholic extract of Inula helenium leaf may benefit from antinociceptive and anti-inflammatory effects.

KEY WORDS: *Inflammation, Pain, Inula helenium, Medicinal plant.*

Please cite this article as follows:

Fallahzadeh AR, Mohammadi S. An Investigation of the Antinociceptive and Anti-inflammatory Effects of Hydroalcoholic Extract of Inula Helenium on Male Rats. J Babol Univ Med Sci. 2016;18(12):57-63.

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

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

Tel: +98 81 12518064

E-mail: smiauhphd.sm@gmail.com

References

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

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

3.Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. Nature. 2008;24(424): 428-35.

4.Sesterhenn K, Distl M, Wink M. Occurrence of iridoid glycosides in in vitro cultures and intact plants of scrophularia nodosaL. Plant Cell Rep. 2007;26(3):365-71.

5.Mohammadi S, Zarei M, Zarei MM, Salehi I. Effect of hydroalcoholic leaves extract of rhus coriaria on pain in male rats. Anesthesiol Pain Med. 2016;6(1):32128.

6.Rezaeizadeh H, Alizadeh M, Naseri M, Ardakani MS. The traditional Iranian medicine point of view on health and disease. Iran J Publ Health. 2009;38(1):169-72.

7.Gholap S, Kar A. Effects of Inula racemosa root and Gymnema sylvestre leaf extracts in the regulation of corticosteroid induced diabetes mellitus: involvement of thyroid hormones. Die Pharmazie inter J Pharm Sci. 2003;58(6):413-5.

8.Rechinger KH, Flora Iranica. Academic printing and publishing company. Graz Austria. 1987;132-138.

9.Dorn DC, Alexenizer M, Hengstler JG, Dorn A. Tumor cell specific toxicity of Inula helenium extracts. Phytother Res. 2006;20(11):970-80.

10.Zargari A. Medicinal plants, 4th.Tehran: Tehran University Press. 1990. P.29-41.

11.Wiart C. Medicinal plants of the Asia-Pacific: drugs for the future?, 1st Singapore: World Scientific Publishing Co; 2006; pp: 56-68.

12.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].

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

14.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.

15.Arumugam P, Murugan M, Thangaraj N. Evaluation of anti-inflammatory and analgesic effects of aqueous extract obtained from root powder of inula racemosa Hook. J Med Plant Res. 2012;6(14):2801-6.

16.Ortholand JY, Ganesan A. Natural products and combinatorial chemistry: back to the future. Curr Op Chem Biol. 2004;8(3):271-80.

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

18.Hoseinzadeh H, Younesi HM. Anthnociceptive and antiinflammatory effects of Crocus sativusL. stigma and petal extracts in mice. BMC pharmacol. 2002;2(7):1-8.

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. D'Amour FE, Smith DL. A method of determining loss of pain sensation. J Pharmacol Exp Ther. 1941;72:74-7.

21.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.

22.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.

23.Barros IMC, Lopes LDG, Borges MOR, Borges ACR. Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of Pluchea quitoc(DC.) ethanolic extract. J Ethnopharmacol. 2006,106(3):317-20.

24.Fields, HL, Basbaum, AI. Central nervous system mechanisms of pain modulation. in: PD Wall, R Melzack (Eds.) Textbook of pain. 3rd ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1994.p.243–257.

25.Arambewela LSR, Arawwawala LDAM, Ratnasooriya WD. Antinociceptive activities of aqueous and ethanolic extracts of alpinia calcaratarhizomes in rats. J Ethnopharmacol. 2004;95(2-3):311-16.

26.Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. Pain. 1992;51(1):5-17.

27.Khan H, Saeed M, AU Gilani. The antinociceptive activity of Polygonatum verticillatumrhizomes in pain models. J Ethnopharmacol. 2010;127(2):521-7.

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.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.

30.Zhao YM, Zhang ML, Shi QW, Kiyota H. Chemical constituents of plants from the genus Inula. Chem Biodivers. 2006;3(4):371-84.

31.Zhang SH, Jiang-Jiang Qin JJ, Jin HZ,Yin YH. Sesquiterpenoids from inula helenium inhibit nitric oxide production. Planta Med. 2012;78(2):166-71.

32.Vane JR, Botting RM. Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action. Inflammat Res. 1998;47(2):78-87.

33.Bittar M, de Souza MM, Yunes RA, Lento R, DelleMonache F, Cechinel Filho V. Antinociceptive activityof I3, II8-binaringenin, a biflavonoid present in plants of the Guttiferae. Planta Med. 2000;66(1):84-6.

34.Woodman OL, Chan E. Vascular and anti-oxidant actions of flavonols and flavones. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2004;31(11):786-90.