

Original Article

Antinociceptive effect of *heracleum persicum* Leaf hydroethanolic extract in diabetic male mice

Tayebeh Moharerizadeh^{1*}, Nasere Mirazi²

¹Department of Biology, School of Medicine, Islamic Azad University, Hamadan Branch, Hamadan, Iran

²Department of Biology, School of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran

*Corresponding author; E-mail: t.mohareri53@yahoo.com

Received: 21 April 2015 Accepted: 12 August 2015 First Published online: 11 October 2017

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2017 December; 39(5):57-64

Abstract

Background: Pain is a protective sense in tissue injury time. Diabetes mellitus accompanies with undesirable neuropathic side-effects in long term. The aim of this study was to examine analgesic effects of hydroethanolic *HeracleumPersicum*L. leaf's extract (HHE) in diabetic and intact male mice.

Methods: 96 male mice were divided into 9 groups: control, treated by morphine, treated by HHE (100,200 and 400mg/kg,i.p.) , naloxone + HHE(200mg/kg) and STZ (60mg/kg, i.p) and STZ+ HHE(400mg/kg) randomly. To assess the antinociceptive effects of HHE, the animals were examined by tail-flick and writhing tests.

Results: 200 and 400 mg/kg of HHE increased pain threshold compared with control group in writhing and till flick tests ($p<0.001$). Also the effect of administration of 400 mg/kg HHE was moreanalgesic that of morphine alone ($p<0.001$). Diabetic group had low threshold to pain compared to control group.

Conclusion: HHE has antinociceptive and anti-diabetic effects. We suggest the analgesic effects of HHE may be due to opioid system and also it effect on prostaglandins synthesis.

Keywords: Heracleumpersicum, Pain, Diabetes, Streptozotocin, Mice

How to cite this article: Moharerizadeh T, Mirazi N. [Antinociceptive effects of heracleum persicum Leaf hydroethanolic extract in diabetic male mice]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2017 December;39(5):57-64. Persian.

مقاله پژوهشی

اثر ضد دردی عصاره هیدروآتانولی برگ گیاه گلپر (*Heracleum persicum* L.) در موش سوری نر سالم و دیابتیکطیبه محرمی زاده^{۱*}، ناصر میرازی^۲^۱گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، همدان، ایران^۲گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا همدان، همدان، ایران

*نویسنده رابط؛ ایمیل: t.mohareeri53@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۴/۲/۱ پذیرش: ۱۳۹۴/۵/۲۱ انتشار برخط: ۱۳۹۶/۷/۱۹

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۶ آذر و دی؛ ۳۹(۵): ۵۷-۶۴

چکیده

زمینه: بیماری دیابت در دراز مدت با عوارض نامطلوب نوروپاتی به خصوص در نوروهای درد همراه می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثر ضددردی عصاره هیدروآتانولی برگ گیاه گلپر در موش‌های سوری نر سالم و دیابتیک می‌باشد.

روش کار: در این مطالعه تجربی از ۹۶ سر موش سوری نر ۸ گروه کنترل (نرمال سالین)، گروه شاهد مثبت (مورفین ۱ mg/kg)، گروه‌های تیمار شده با عصاره گلپر (۴۰۰ mg/kg و ۲۰۰ mg/kg) و گروه تیمار شده با نالوکسان (۰/۲ mg/kg) + دوز ۲۰۰ mg/kg عصاره گلپر تقسیم شدند. در گروه‌های دیابتی شامل: گروه دیابتی القا شده با استرپتوزوتوسین (۶۰ mg/kg) و دیابتیک درمان شده با دوز (۴۰۰ mg/kg) عصاره گلپر استفاده شد. به منظور ارزیابی اثر ضددردی از آزمون تیل فلیک و رایتینگ استفاده شد.

یافته‌ها: نشان داد که دوز ۴۰۰ mg/kg و ۲۰۰ mg/kg عصاره گلپر، سبب افزایش آستانه درد در مقایسه با گروه کنترل در تست رایتینگ و تیل فلیک شد. گروه دیابتیک درمان شده با عصاره گلپر نیز بی دردی قابل ملاحظه‌ای نسبت به گروه کنترل و دیابتیک از خود نشان دادند ($p < 0/001$).

نتیجه گیری: در پژوهش حاضر عصاره گلپر دارای خواص ضد درد و ضد دیابتیک است. اثرات ضد درد ممکن است به دلیل سیستم اپیوئیدی و پروستاگلاندین سنتز باشد.

کلید واژه‌ها: گیاه گلپر، درد، دیابت قندی، استرپتوزوتوسین، موش سوری

نحوه استناد به این مقاله: محرمی زاده ط، میرازی ن. اثر ضد دردی عصاره هیدروآتانولی برگ گیاه گلپر (*Heracleum persicum* L.) در موش‌های سوری نر سالم و دیابتیک. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۶؛ ۳۹(۵): ۵۷-۶۴

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کپی‌تو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

درد حس نامطلوبی است که در اثر صدمات وارده به بافتهای مختلف در بدن انسان بوجود می آید. درد از جمله مشکلاتی است که انسان همواره با آن دست به گریبان بوده و سالهاست که تلاش می کند تا برای رهایی از آن چاره ای پیدا کند (۱). دیابت احتمالا سریعترین بیماری متابولیکی در حال رشد در دنیا می باشد (۲). آسیب سلولهای بتای لوزالمعده یا بیماریهایی که تولید انسولین را مختل میکنند، منجر به دیابت نوع یک می گردد و کاهش حساسیت بافتهای هدف به اثرات متابولیک انسولین که منجر به مقاومت به انسولین می شود از عوامل ایجاد دیابت نوع دو می باشد. غلظت بالای گلوکز در دراز مدت باعث آسیب بسیاری از بافتها می شود. درد نوروپاتی محیطی و اختلال در عملکرد سیستم اعصاب اتونوم از عوارض شایع دیابت مزمن و درمان نشده است (۱). درد ناشی از نوروپاتی اعصاب محیطی یکی از شکایات مهم بالینی افراد مبتلا به دیابت قندی محسوب می شود این بیماری بسیاری از ارگانهای بدن را تحت تاثیر قرار می دهد، عوامل آسیب رسان بافتی در بیماری دیابت خود موجب بروز درد یا تشدید آن خواهد شد و کیفیت زندگی این بیماران را تحت تاثیر قرار می دهد. در این صورت تعدیل درد در این بیماران از اهمیت زیادی برخوردار است. استفاده از داروهای ضد درد شیمیایی ممکن است در بیماران سالم و دیابتی اثرات جانبی متنوع و مختلفی را ایجاد نماید. بنابراین طراحی عوامل ضددرد بسیار مطلوب است. یکی از روش های دستیابی به این هدف استفاده از گیاهان داروئی است (۳). این مسئله باعث شده در سالهای اخیر استفاده از گیاهان داروئی رواج بسیار زیادی یابد چون هم عوارض جانبی کمتری دارند هم مقرون به صرفه هستند، همچنین اثرات ضددردی داروهای گیاهی مختلف روی انسان و حیوان نشان داده شده است. گلپر ایرانی که از خانواده چتریان است، گیاهی علفی و چند ساله و یکی از ده گونه جنس گلپر می باشد که از میوه، ریشه، برگ و ساقه آن به رنگ سبز تیره بوده و سطح زیرین فاقد کرک بوده و گلها سفید است و در تابستان برداشت می شود. این گیاه دارای طبع گرم می باشد و در ایران به منزله چاشنی در تهیه ترشیجات و در طب سنتی به عنوان داروی ضد نفخ به کار می رود (۴). گیاه گلپر بومی ایران است و در نیمه شمالی و کوهستانی و در ارتفاعات ۱۵۰۰ متر و بالاتر رشد می کند. گیاه گلپر خاصیت ضد میکروبی دارد و مشاهده شده که روغن گلپر خاصیت ضد التهابی و بی حس کنندگی دارد (۵). عصاره این گیاه میزان ترشح اسید و پپسین معده را افزایش می دهد، در ریشه آن خواص بی شماری نهفته و برگهای معطر آن در چای مورد استفاده قرار می گیرد. میوه گلپر در درمان تشنج و بیماریهای عصبی مفید بوده و از آن در تسکین التهاب معده به عنوان مسکن استفاده می شود (۶). گیاه گلپر محتوی روغن های فرار مانند آنتول، استرهای خطی همانند: هگزیل بوتیرات، استیل استات، هگزیل

متیل بوتانت و هگزیل ایزوبوتیرات می باشد (۷). بعلت فقدان مطالعات اختصاصی نمی توان با اطمینان ادعا نمود که در صورت وجود چنین خواصی تا چه اندازه موثرند و با توجه به اینکه در مورد خواص ضد التهابی و ضد دردی گیاه گلپر به خصوص در بیماران دیابتی تحقیقات اندکی صورت گرفته است. براین مبنا تحقیق حاضر در پی مطالعه اثر ضددردی این گیاه در دو مدل تجربی درد شامل: تیل فلیک و رایتینگ خواهد بود تا تاثیر ضد دردی عصاره گیاه هیدروآتانیولی گیاه گلپر در موش سالم و دیابتی و دوز موثرتر آن مورد ارزیابی قرار گیرد.

روش کار

این آزمایشات در مرکز تحقیقات فیزیولوژی اعصاب دانشگاه پزشکی بوعلی سینای همدان انجام شد. تعداد ۹۶ سر موش سفید نر مویک آزمایشگاهی از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. حیوانات به طور تصادفی به گروههایی شامل: گروه کنترل (نرمال سالین)، گروه شاهد مثبت (مورفین ۱mg/kg.b.w)، گروههای تیمار شده با عصاره گلپر (۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰mg/kg) و گروه تیمار شده با نالوکسان (۰/۲ mg/kg) + دوز ۲۰۰ mg/kg عصاره گلپر و در گروههای دیابتی شامل: گروه دیابتی با استرپتوزوتوسین (mg/kg ۶۰) و دیابتی درمان شده با دوز (۴۰۰ mg/kg) عصاره گلپر تقسیم شدند. تعداد موش ها در هر گروه در دو آزمون تیل فلیک و رایتینگ ۶ سر می باشد و در شرایط استاندارد و شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با دسترسی آزادانه به آب لوله کشی و غذای فشرده مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس) بود و شروع دوره روشنایی از ۷ صبح در شرایط دمایی (۱±۲۳) انجام شد. آزمایش مورد نظر بین ساعات ۸ صبح تا ۱۲ ظهر انجام گرفت موش ها به مدت یک هفته در اتاق در اتاق حیوانات جهت سازش و رسیدن به وزن مناسب در قفس های پلکسی گلاس نگهداری شدند وزن موش ها در ابتدای شروع آزمایش به حدود ۲۵±۵۳ گرم رسیده و همه حیوانات فقط یکبار تحت آزمایش قرار گرفتند و بلافاصله بعد از آزمایش با دی متیل اتر یا کلروفرم کشته شدند. داروها و مواد شیمیایی عبارتند از سرم فیزیولوژی، استرپتوزوتوسین، مورفین، نالوکسان، اسید استیک.

مقدار ۳ کیلوگرم برگ گیاه گلپر از باغ گیاهان داروئی تهیه شده و سپس توسط کارشناس مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی مورد شناسایی قرار گرفت. نمونه مورد نظر در درجه حرارت اتاق و در سایه خشک گردید. سپس توسط آسیاب برقی خانگی به صورت پودر به وزن ۹۰۰ گرم در آمد. ۱۵۰ گرم از پودر گیاه خشک شده در یک لیتر الکل اتیلیک ۸۰ درصد به مدت یک هفته در یخچال نگهداری شد تا مواد موثره مورد نیاز استخراج شود. مخلوط حاصل توسط کاغذ صافی صاف شد و در دستگاه روتاری در

آسیب بافتی محرک قطع می‌شد. حیوان به صورت افقی در محفظه مخصوص نگهداری حیوانات قرار شد و زمان پس کشیدن دم در آنها ثبت شد. جهت بررسی داده‌ها از آزمون ANOVA استفاده می‌کنیم. همچنین برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه بین آزمودنی و برای مقایسات دو به دو از آزمون Tukey استفاده شد.

یافته‌ها

جهت بدست آوردن حداکثر احتمال اثر، داده‌های حاصل از این بررسی با استفاده از فرمول $100 \times \frac{\text{زمان پاسخ اولیه} - \text{زمان پاسخ پس از تزریق}}{\text{cut off point}}$ و همچنین زمان تأخیر (MPE%) در پس کشیدن دم مورد ارزیابی قرار گرفت.

در گروه‌های دریافت کننده عصاره گیاه دوز ۲۰۰ mg/kg و ۴۰۰ mg/kg نسبت به گروه کنترل، کاهش معناداری در تست Writhing مشاهده شد (نمودار ۱) ($p < 0.005$).

همچنین در بررسی تست Writhing، بین گروه‌های دریافت کننده-STZ و دریافت کننده عصاره گیاه دوز ۴۰۰ mg/kg + STZ اختلاف معناداری مشاهده شد. عصاره گیاه دوز ۴۰۰ mg/kg + STZ منجر به کاهش معنادار در تست Writhing نسبت به گروه دریافت کننده STZ خواهد (نمودار ۲) ($p < 0.005$).

از طرفی در گروه دریافت کننده مورفین نسبت به گروه دریافت کننده عصاره گیاه دوزهای ۲۰۰ mg/kg و ۴۰۰ mg/kg + STZ اختلاف معناداری در تست Writhing مشاهده نشد در حالی که دریافت عصاره گیاه دوز ۲۰۰ mg/kg + نالوکسان منجر به افزایش در تست Writhing نسبت به گروه دریافت کننده عصاره گیاه دوز ۲۰۰ mg/kg خواهد شد (نمودار ۱).

مقایسه زمان پرش دم نسبت به محرک دردزا در بین گروه‌های مورد آزمایش نسبت به مرحله بعد از تزریق در همان گروه نشان داد که تزریق دوزهای ۲۰۰ mg/kg و ۴۰۰ mg/kg عصاره گیاه سبب افزایش معناداری در زمان تست پرش دم (Tail Flick) نسبت به محرک دردزا شد (نمودار ۳).

همچنین در گروه دریافت کننده عصاره گیاه دوز ۴۰۰ mg/kg + STZ، در زمان تست پرش دم بعد از آزمایش نسبت به قبل از آزمایش اختلاف معناداری مشاهده شد دریافت عصاره گیاه دوز ۴۰۰ mg/kg + STZ منجر به افزایش در زمان تست پرش دم بعد از آزمایش نسبت به قبل از آزمایش از طرفی بین گروه دریافت کننده مورفین نسبت به گروه دریافت کننده STZ + ۴۰۰ mg/kg عصاره گیاه دوزهای ۲۰۰ mg/kg و ۴۰۰ mg/kg ($p < 0.001$)، نیز، با اطمینان ۹۵٪ افزایش معناداری در زمان تست پرش دم بعد از آزمایش مشاهده شد ($p < 0.005$).

دمای ۴۸-۵۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد و سپس حلال آن جدا گردید و به مدت یک هفته دیگر در زیرهود در درون یک ظرف پتری به منظور خشک شدن قرار داده شد. این ماده به طور مشخص چرب بود.

پودر استرپتوزوتوسین محصول شرکت Sigma Aldrich آلمان در بسته‌های ۱ گرمی خریداری شد. برای تهیه استرپتوزوتوسین تزریقی باید مقدار مورد نیاز از پودر آن را در مقدار مناسب بافر سیترات سدیم ۰/۰۱ مولار حل نمود.

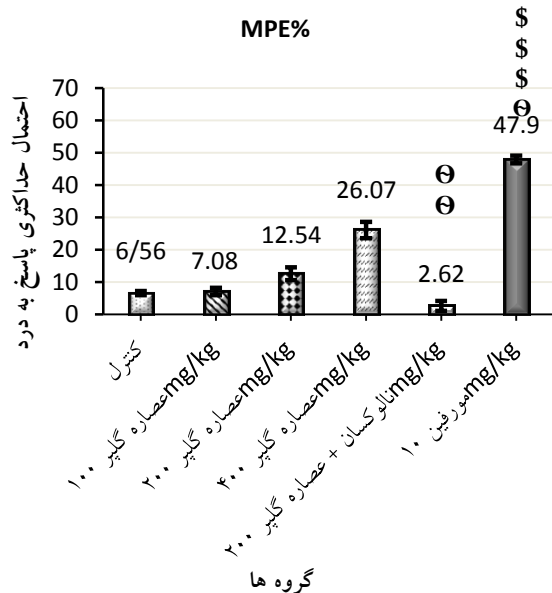
ابتدا استرپتوزوتوسین در بافر سیترات حل شد و به صورت داخل صفاقی و تک دوز ۶۰ mg/kgw تزریق شد. بعد از سه روز از تزریق استرپتوزوتوسین علائم دیابت مثل پرنوشی، پرخوری پرادراری مشخص شد. برای اطمینان از دیابتی بودن حیوانات، قند خون توسط دستگاه گلوکومتری (دستگاه سنجش قند) اندازه گیری شد و قند خون بالاتر از ۲۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر به عنوان موش دیابتی در نظر گرفته شد و فقط حیوانات دیابتی شده به مرحله‌ی بعد برای شروع تیمار راه یافتند.

تست رایتینگ (Writhing test) در تشخیص درد مرکزی از محیطی بسیار سودمند است و با مشاهده و شمارش مستقیم انقباضات شکمی قابل بررسی است، همچنین فعالیت ضددردی آگونیست اوپیوئیدی، پارشیال آگونیست و نمایندگان ضد التهابی را نمی‌توان بوسیله تست انقباضات شکمی شناسایی نمود (۸).

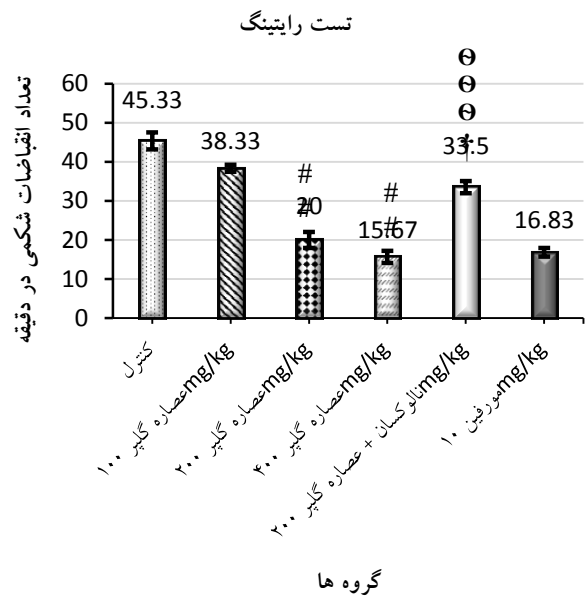
در روز آزمایش به منظور عادت دادن حیوانات به محیط، هر یک از آنها ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش در جعبه استاندارد شیشه‌ای قرار داده شدند. عصاره هیدروآتانولی برگ گیاه کلپر در مقادیر مشخصی از سرم فیزیولوژیک استریل حل و با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی تزریق گردیدند. پس از گذشت دقیقه اسید استیک به حجم ۰/۱ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن با غلظت ۰/۶٪ تزریق شد و بلافاصله پس از تزریق درون صفاقی اسید استیک، تعداد انقباضات شکمی (به گونه ای که هر دو پای موش کاملاً کشیده گردد) به مدت ۳۰ دقیقه شمارش گردید در ضمن هر حیوان فقط یکبار مورد استفاده قرار گرفت (در گروه کنترل در موش‌های سالم و دیابتی نیز بعد از تزریق درون صفاقی سالیس تست رایتینگ انجام شد).

آزمون تیل فلیک یکی از آزمونهای استاندارد برای اندازه‌گیری میزان هایپرآلژزی می باشد، این آزمایش با استفاده از دستگاه پرش دم، مدل TF-5500 ساخت شرکت برج صنعت ایران، بر اساس مدل ارائه شده قبلی انجام شد (۹). شدت نور مورد استفاده برابر با ۷ بود (درجه روی دستگاه) و از مدت زمان مرجع ۱۰ ثانیه به عنوان زمان قطعی نوردهی (Cut off time) استفاده شد، یعنی چنانچه حیوان تا مدت ۱۰ ثانیه پس از تابش نور سوزان، دم خود را نمی‌کشید به منظور جلوگیری از

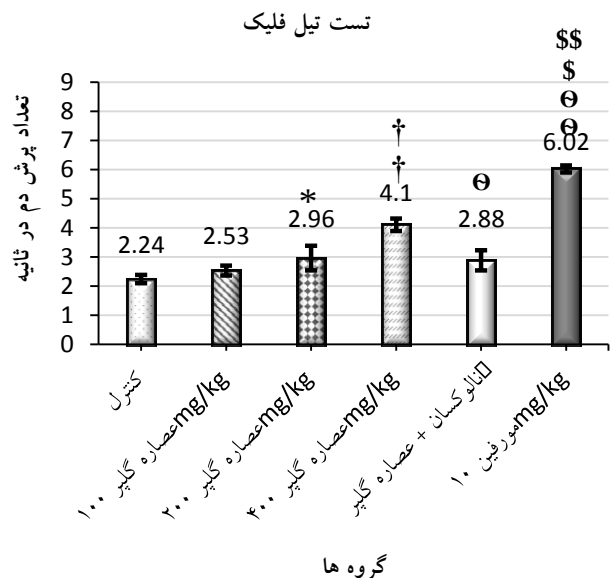
و در مقابل در گروه دریافت کننده عصاره گیبر دوز $STZ + 400 \text{ mg/kg}$ نسبت به گروه دریافت کننده مورفین، کاهش معناداری در زمان تست پرش دم بعد از آزمایش مشاهده شد (نمودار ۲) ($p < 0.0005$). در بررسی تست پرش دم بعد از آزمایش، در گروه دریافت کننده عصاره گیبر 200 mg/kg + نالوکسان نسبت به گروه دریافت کننده عصاره گیبر 200 mg/kg اختلاف معناداری مشاهده نشد. در بررسی احتمال حداکثری پاسخ به درد (MPE%) بین گروه‌های دریافت کننده عصاره گیبر دوز 100 mg/kg و دریافت کننده عصاره گیبر 400 mg/kg و 200 mg/kg اختلاف معناداری مشاهده شد ($p < 0.001$). دریافت عصاره گیبر 400 mg/kg و 200 mg/kg منجر به افزایش احتمال حداکثری پاسخ به درد نسبت به گروه دریافت کننده عصاره گیبر 100 mg/kg خواهد شد (نمودار ۳). طبق نتایج مندرج در جدول و نمودار فوق در گروه دریافت کننده STZ نسبت به گروه کنترل، با توجه به اینکه $P = 0.045$ و $\alpha = 0.05$ شده است، با اطمینان ۹۵٪ کاهش معناداری در احتمال حداکثری پاسخ به درد مشاهده شد. در بررسی احتمال حداکثری پاسخ به درد، بین گروه‌های کنترل، دریافت کننده STZ + عصاره گیبر 400 mg/kg ، اختلاف معناداری مشاهده شد ($p < 0.001$). دریافت STZ + عصاره گیبر 400 mg/kg منجر به افزایش احتمال حداکثری پاسخ به درد نسبت به گروه کنترل خواهد شد. همچنین در گروه دریافت کننده STZ + عصاره گیبر 400 mg/kg نسبت به گروه دریافت کننده STZ ، افزایش معناداری در احتمال حداکثری پاسخ به درد مشاهده شد ($p < 0.001$) (نمودار ۴)



نمودار ۳: مقایسه با احتمال حداکثری پاسخ به درد (MPE%) در گروه‌های دریافت کننده نورمال سالین (کنترل)، عصاره گیبر 100 mg/kg ، 200 mg/kg ، 400 mg/kg + نالوکسان و مورفین، در موش‌های سوری نر



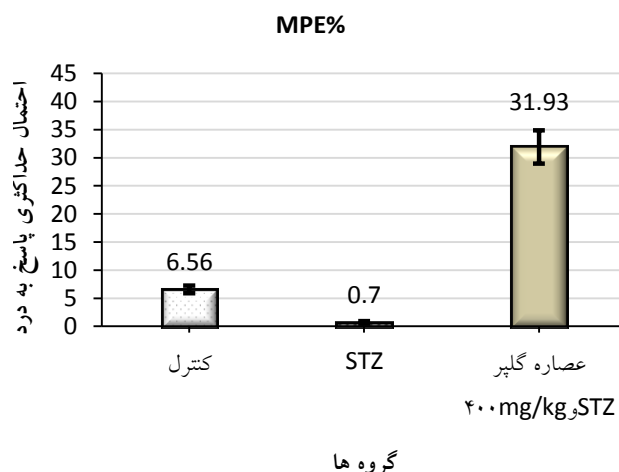
نمودار ۱: مقایسه‌ی تست Writhing در گروه‌های دریافت کننده نورمال سالین (کنترل)، عصاره گیبر 100 mg/kg ، 200 mg/kg ، 400 mg/kg + عصاره گیبر 200 mg/kg + نالوکسان و مورفین در موش‌های سوری نر. * بیانگر معناداری نسبت به گروه کنترل، # بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده عصاره گیبر 100 mg/kg ، † بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده عصاره گیبر 200 mg/kg ، ‡ بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده عصاره گیبر 400 mg/kg و § بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده عصاره گیبر 200 mg/kg + نالوکسان است. (***) $P < 0.001$ ، (**) $P < 0.01$ ، (†††) $P < 0.001$ ، (††) $P < 0.01$ ، (†) $P < 0.05$ ، (###) $P < 0.001$ ، (\$\$\$) $P < 0.001$



نمودار ۲: مقایسه‌ی تست Tail flick در گروه‌های دریافت کننده نورمال سالین (کنترل)، STZ و عصاره گیبر 400 mg/kg + STZ بعد از آزمایش در موش‌های سوری نر

نالوکسان از اثر داروهای ضددردی مانند مورفین جلوگیری کرده و حتی از القای بی‌دردی پیشگیری می‌نماید (۱۵). در این پژوهش تزریق نالوکسان در تست تیل فلیک تأثیری بر اثر ضددردی عصاره گلپر دوز ۲۰۰ mg/kg نداشت اما تزریق نالوکسان در تست ریتینگ اثر ضددردی عصاره دوز ۲۰۰ mg/kg را کاهش داد. لذا نتیجه نشان می‌دهد که عصاره گیاه گلپر حداقل بخشی از اثرات خود را از طریق گیرنده اپیئوئیدی اعمال نموده و بخش دیگر را از طریق سیستم سیکلواکسیژناز اعمال می‌کند و احتمالاً ناشی از تأثیر بفرایندهای التهابی است. به نظر می‌رسد عصاره گیاه گلپر با تأثیر بر سیستم اعصاب مرکزی و محیطی می‌کند اثر ضددردی خود را اعمال می‌کند. تحقیقات قبلی نشان داده اندام‌های مختلف گیاه گلپر دارای مواد مؤثره فراوان از جمله انواع کومارین‌ها و گزانتوتوکسین است و همچنین گلپر حاوی مواد فورانوکومارین و فلاونوئید می‌باشد (۱۶). احتمالاً وجود آلکالوئیدهای موجود در عصاره گیاه گلپر منجر به اثرات ضد باکتریایی این گیاه شده است (۱۷). مطالعات قبلی نشان داده اند که عصاره‌های آلکالوئیدی حداقل در قسمتی از سیستم‌های تسکینی مخدري نقش دارند (۱۸). یکی از ترکیبات فراوان در گیاهان با خاصیت ضددردی فلاونوئیدها هستند. فلاونوئیدها ترکیبات پلی فنل طبیعی موجود در گیاهان می‌باشند که دارای خواص ضد دردی ضدالتهابی هستند (۱۹). فلاونوئیدها با مهار سیکلواکسیژناز در بافت ملتهب، مانع از تشکیل پروستاگلندین‌ها می‌شوند. پروستاگلندین‌ها سبب تحریک رسپتورهای درد می‌شوند. گیاهان حاوی فلاونوئید بسیاری از آثار خود را با مهار آنزیم سیکلواکسیژناز اعمال می‌کنند و انقباضات شکمی نیز وابسته به حساسیت گیرنده‌های درد ترکیباتی از جمله پروستاگلندین است (۲۰).

به نظر می‌رسد که اثرات ضد دردی محیطی عصاره گیاه گلپر به طور غیرمستقیم به وسیله مدیاتورهای داخلی نظیر برادی‌کینین، سرتونین، ماده ۵ هیستامین و پروستاگلندین‌ها ایجاد شده باشد، چرا که همه این مدیاتورها با تحریک نورون‌های دردزای محیطی در ارتباط می‌باشند (۲۱). همچنین در پژوهشی توسط Hajhashemi و همکاران اثرات ضددردی و ضد التهابی گلپر انجام گرفت در مرحله دوم از موم فرمالین مشخص شد که نتایج این پژوهش با تحقیق کنونی مطابقت دارد و اثرات ضددردی و ضدالتهابی این گیاه به ترکیبات شیمیایی موجود در آن نسبت داده شده است (۵). پژوهش‌های قبلی مشخص نموده که فلاونوئیدها، گلیکوپروتئین‌ها، پلی پتیدها، استروئیدها، آلکالوئیدها و پکتین موجود در گیاهان دارویی می‌تواند خاصیت هیپوگلیسمیک و هیپولیپیدمیک برخی گیاهان دارویی موثر در درمان دیابت از جمله برگ چغندر را از نظر جلوگیری از تغییرات بیوشیمیایی خون به خوبی توجیه کند (۲۲). لذا این مواد نیز می‌



نمودار ۴: مقایسه‌ی احتمال حداکثری پاسخ به درد (MPE%) در گروه‌های دریافت کننده‌ی نرمال سالین (کنترل)، STZ و عصاره‌ی گلپر ۴۰۰ mg/kg STZ + در موش‌های سورینر. * بیانگر معناداری نسبت به گروه کنترل، # بیانگر معناداری نسبت به گروه دریافت کننده‌ی STZ است. (###: P<0.001, *: P<0.05, ***: P<0.001)

بحث

در این پژوهش مشخص شد که در بررسی تست پرش دم و انقباضات شکمی بعد از آزمایش، بین گروه‌های کنترل و دریافت کننده‌ی عصاره‌ی گلپر دوزهای ۲۰۰ mg/kg و ۴۰۰ mg/kg اختلاف معناداری مشاهده شد.

آزمون‌های حرارتی مثل تیل فلیک در مکانیسم‌های مرکزی دخالت دارند و تست تیل فلیک برای بررسی اثرات ضد دردی مرکزی داروها و ترکیبات شیمیایی استفاده می‌شود در واقع این تست به داروهایی حساس است که روی سیستم عصبی مرکزی عمل می‌کنند (۱۰).

ایجاد انقباضات شکمی ناشی از تجویز درون صفاقی اسیداستیک به عنوان یکی از تست‌های استاندارد جهت بررسی اثر داروهای جدید در درمان دردهای احشایی مورد استفاده قرار می‌گیرد و تست رایتینگ به منظور ارزیابی فعالیت ضد دردی محیطی استفاده می‌گردد (۱۱). لذا در این پژوهش نیز احتمال دخالت مکانیسم‌های مرکزی و محیطی کنترل درد، در اثرات ضددردی عصاره گلپر مطرح می‌شود. مطالعات قبلی اثرات ضد التهابی و ضددردی گیاه گلپر را به اثبات رسانده اند (۵).

مطالعات قبلی نشان داده برخی گیاهان تیره چتریان از جمله جعفری و کرفس حاوی ترکیباتی از جمله فلاونوئیدها، تانن‌ها و ترپنوئیدها می‌باشند که می‌توان خصوصیات ضددردی این گیاهان را به این ترکیبات شیمیایی نسبت داد (۱۲ و ۱۳).

شش نوع فورانوکومارین و فلاونوئید در گیاه گلپر وجود دارد (۱۴). از این رو می‌توان اثر ضددردی عصاره گلپر را که از گیاهان خانواده چتریان است نیز به این ترکیبات نسبت داد.

ترانس آنتول (۸۲/۸) می باشد (۳۰)، احتمالاً خواص ضدردی و ضددیابتی گیاه گلپر را می توان به وجود این ماده نسبت داد. جهت تعیین تأثیر این ماده نیاز به پژوهش بیشتری می باشد، همچنین به نظر می رسد استروئید ها و به خصوص فلاونوئید ها و آلکالوئیدهای موجود در عصاره این گیاه با مهار سیکلوآکسیژناز در بافت ملتهب مانع از تشکیل پروستاگلاندین ها می شوند (۱۰).

نتیجه گیری

عصاره هیدروآتانولی گیاه گلپر، در دو تست تیل فلیک و رایتینگ دارای خواص ضد درد و ضد دیابتی است و وابسته به دوز بوده و در دوز ۴۰۰ بیشترین اثر ضدردی را دارد. همچنین عصاره این گیاه احتمالاً در مراحل اولیه القاء دیابت، قبل از تخریب نورونی و ایجاد نوروپاتی دیابتی می تواند روند تخریب نورونی ناشی از دیابت را کاهش دهد و آستانه پاسخ به درد را در نوروپاتی دیابتی نیز کاهش می دهد. به نظر میرسد ترکیبات موجود در این گیاه به ویژه فلاونوئیدها و آلکالوئیدهای موجود در عصاره هیدروآتانولی گلپر با فعال کردن مسیرهای عصبی متعددی سبب کاهش درد و التهاب و نوروپاتی دیابتی می شوند که به پژوهش های بیشتری دارد.

قدردانی

بدین وسیله از زحمات بی پایان آقای دکتر میرازی و آقای دکتر صریحی و همکاری صمیمانه آقای دکتر کمکی و پرسنل محترم آزمایشگاه فیزیولوژی اعصاب دانشگاه بوعلی سینا همدان صمیمانه سپاسگزارم.

توانند خاصیت هیپوگلیسمیک و در نتیجه اثر کاهش دهنده را در موش های دیابتی توسط این گیاه توجیه کند، در این رابطه احتمال داده می شود که فورانوکومارین موجود در گیاه گلپر مؤثرترین ماده در این خصوص باشد (۲۳). نتیجه آزمایش های ما با نتایج آزمایش های برادلی و کورتیکس که نشان دادند دیابت ناشی از استرپتوزوسین منجر به افزایش درد به خصوص دردهای التهابی و همچنین افزایش فعالیت انتهای عصبی درد به دنبال دیابت می گردد، مشابه می باشد (۲۴ و ۲۵). اگرچه نتایج متفاوت، مانند گزارش کاهش هدایت عصبی و کاهش درد به دنبال دیابت قندی هم گزارش شده است (۲۶). در کل نتایج ما با اکثر نتایج هم راستا بوده و نشان از یک هیپرالژزیا در دردهای نوع حاد و مزمن دارد. همانطور که پیشتر گفته شد با توجه به اینکه ایجاد دردهای فازیک مثل صفحه داغ یا رفلکس عقب کشیدن دم بیشتر از طریق مکانیزم مرکزی عمل می کنند (۲۷). بنابراین نتایج کاهش درد در آزمون تست تیل فلیک تاییدی بر عملکرد اثر عصاره گلپر از طریق مکانیزم مرکزی در کاهش هیپرالژزی دیابتی می باشد. همچنین تأثیر عصاره گیاه گلپر در کاهش درد ناشی از تزریق اسید استیک (Writhing test) نشان می دهد که این عصاره از طریق محیطی یعنی تعدیل واسطه های محیطی ایجاد کننده درد قادر به کاهش هیپرالژزی دیابتی می باشد، همچنین با توجه به گزارش های ارائه شده در مورد تقویت اثر سیستم اویپویدی به وسیله آلکالوئیدها می توان نتیجه گرفت احتمالاً ترکیبات عصاره برگ گیاه گلپر قادر است از طریق مکانیزم مرکزی و با تداخل با سیستم اویپویدی میزان درد افزایش یافته در اثر دیابت را کاهش دهد (۲۸). طی پژوهش های قبلی مشخص شد که گیاه گونه آنیسوم به دلیل در صد بالای ترانس آنتول در آن دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بالائی می باشد (۲۹). لذا باتوجه به اینکه در گیاه گلپر نیز میزان

References

- Guyton A, Hall J. Textbook of Medical Physiology. translating by F. Shadan, Iran: publishing Chehr, 2006; PP: 903-1028.
- ADA Group (American Diabetes Association) Clinical practice recommendation. screening for diabetes. *Diabetes Care* 1997; **20**: 22-24. doi: 10.2337/diacare.20.1.S22
- Guimaraesag Q, Quintan J. Monoterpenes with Analgesic Activity-systemic review. *Phytother Res* 2013; **27**(1): 1-15. doi: 10.1002/ptr.4686
- Zargari A. *Pharmaceutical plant*. 2nd ed. Tehran, Tehran University Press, 1996; PP: 619-625. Persian.
- Hajhashemi V, Sajjadi S.E, Heshmati M. Anti-inflammatory and analgesic properties of Heracleum premium essential oil and hydroalcoholic extract in animal models. *J Ethnopharmacol* 2009; **124**: 475-480. doi: 10.1016/j.jep.2009.05.012
- Shahrani M, Nabavizadeh F, Shirzadeh H, Yousefi H. Effect of Heracleum premium extract on acid and pepsin secretion level in both basic and stimulated conditions with Penta gastrin in rat 2006; **7**(4): 35-41.
- Sefidkon F, Dabiri M, Mohammad N. Analysis of the oil of Heracleum persicum L, (leaves and flowers). *J Essential Oil Research* 2002; **14**(4): 295-230. doi: 10.1080/10412905.2002.9699860
- Vogel HG. Skin Sensitization Testing. *Drug discovery and evolution Pharmacol Assays* 1997; **14**: 402-403. doi: 10.1007/978-3-642-27728-3_94-1
- D'Amour FE, Smith DL. A method of determining loss of pain sensation. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; **27**: 74-77.
- Carlsson KH, Jurna I. Depression by flupirtine; a novel analgesic agent of motor and sensory response of nociceptive system in the rat spinal cord. *Eur J*

- Pharmacol* 1987; **143**: 87-99. doi: 10.1016/0014-2999(87)90738-2
11. Gene RM, Segura L, Adzet T, Marin E, Ingle- sias J. Heterotheca inuloides: anti-inflammatory and analgesic effects. *J Ethnopharmacol* 1998; **60**: 157-162. doi: 10.1016/S0378-8741(97)00155-4
 12. Hmamouchi M. Les plantes medicinales et aromatiques marocaines. *Rabat* 1999; **92**: 174-175.
 13. Lin L, Lu S, Harnly J. Detection and quantification of glycosylated flavonoid malonates in celery, Chinese celery, and celery seed by LC-DAD-ESI/MS. *J Agric Food Chem* 2007; **55**(4): 1321-1326. doi: 10.1021/jf0624796
 14. Merijanlian A, Colasurdo T, Samtak P, Ullrich J, Spagnuolo J. The furanocomarins of *Heracleum persicum* L. *Rev Latinoam Quim* 1980; **11**: 51-53.
 15. Mohebbi SH, Nasri S, Kamalinejad M. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Berberis vulgaris* L. roots hydroalcoholic extract and determination of its possible antinociceptive mechanism in male mice. *Journal of Paramedical Sciences* 2011; **2**: 4978-4979.
 16. Aynehchi Y, Aliabadi Z, Salehi-Surmaghi M.H. Furanocoumarines in roots of *Heracleum persicum*. *Acta Horticult* 1978; **73**: 103-107.
 17. Debella A. Manual for phytochemical screening of medicinal plants. *Ethiop Health Nutr Res Inst* 2002; **84**: 33-37.
 18. Farouk L, Laroubi A, Aboufatima R, Benharref A, Chait A. Evaluation of the analgesic effect of alkaloid extract of *Peganum harmala* L. Possible mechanisms involved. *J Ethnopharmacol* 2008; **115**: 449-454.
 19. Hoodgar F, Nasri S, Amin Gh. Investigation of Ant nociceptive and Anti-inflammatory Effects of Hydroalcoholic Extract of *Securigera Securidaca* L. Ofogh-e-Danesh; *Journal of Gonabad University of Medical Sciences* 2011; **17**(2): 12-20.
 20. Eidi A, Eidi M, Mazooji A, Mortezaie S. Antinociceptive effects of ethanoic extracts of *Salvia sclera* L. aerial parts in mice. *Journal of Sciences (Islamic Azad University)* 2011; **20**(78/1): 61-70.
 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* 1968; **32**: 295-310.
 22. Tomoda M, Shimada K, Konno C, Hikini H. Structure of Panaxan B: a hypoglycemic glycan of *Panax ginseng* roots. *Photochemistry* 1985; **24**: 2431-2433. doi: 10.1016/S0031-9422(00)83057-5
 23. Sourì E, Farsam H, Sarkheil P, Ebadi F. Antioxidant activity of some furanocoumarins isolated from *heracleum persicum*. *Pharmaceut Biol (Formerly International Journal of Pharmacognosy)* 2004; **42**(6): 396-399. doi: 10.1080/13880200490885077
 24. Bradley S, Ann Gi, Mark P. Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description, and quality of life. *Diabetic research and clinical practice* 2000; **47**: 123-128. doi: 10.1016/S0168-8227(99)00112-6
 25. Courteix C, Eschalier A, Lavarenne J. Streptozocin-induced diabetic rats: behavioral evidence for a model of chronic pain. *Pain* 1993; **53**: 81-88. doi: 10.1016/0304-3959(93)90059-X
 26. Richard J, Peter L, Daniel R, Reto M. Prevention of nerve conduction deficit in diabetic rats by polyunsaturated fatty acids. *American Journal of Clinical Nutrition* 2000; **71**: 386-392.
 27. Xu G, Duanmu Z, Yin Q. The role of Ach in the central nerve system on pain modulation and analgesia. *Zhenci Yan Jiu* 1993; **18**: 1-5.
 28. Tekol Y, Eminel S. Combination use of tertiary amine para sympathomimetic with a quaternary amine para sympatholytic: a new perspective to use para sympathomimetic drug for systemic analgesia. *Pharmazie* 2002; **57**: 485-486.
 29. Salehi Atay A, Esmaelzadeh Kenari R, Nasiri T. The antioxidant function of essential oils and plant extracts Anarryjh and Applications, Second Seminar on Food Security, 2013: 27-45.
 30. Tkachenko KG. Constituents of essential oils from fruit of some *Heracleum* L. Species. *J Essential Oil Research* 1993; **5**(6): 687-689.