مقاله پژوهشي

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دوره هفتم، شماره سوم، پاییز ۱۳۸۷، ۱۷۲–۱۶۵

اثرات ضد دردی و ضدالتهابی عصاره آبی - الکلی گیاه بیلهر (Dorema aucheri) با استفاده از تست فرمالین و مدل کاراژینان در موش صحرایی نر

مختار مختاری ۱، مهرداد شریعتی ۱، حکیمه نیکنام ۳

يذيرش مقاله: ۸٧/٦/٢٧

دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۸۷/٤/۱٥

ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸۷/۲/٤

دريافت مقاله: 87/9/۲٥

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به خواص عصارههای گیاهان خانواده چتریان، در این پژوهش به بررسی اثرات ضد دردی و ضد التهابی عصاره آبی – الکلی گیاه بیلهر پرداخته شده است.

مواد و روشها: در این مطالعه تجربی از ۸۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰-۱۹۰ گـرم استفاده شد که به ۱۰ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. برای بررسی اثرات ضد دردی از تست فرمالین و برای بررسی اثر ضد التهابی از مـدل کاراژینان ایجاد کننده ادم پا در موشها استفاده گردید. همه حیوانها با دوزهای ۲۰۰،۱۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره بیلهر از طریق دهانی پیشدرمانی شدند. به گروه کنترل هیچ دارویی تجویز نشد و گروه شاهد فقط آب مقطر دریافت کرد. ۵-۰ و ۶۰-۱۶ دقیقه بعد از تزریق فرمالین به ترتیب به عنوان مراحل حاد و مزمن درد در نظر گرفته شد. حجم پای حیوان بلافاصله و ۲۵-۱۶ دقیقه بس از تزریق کاراژینان توسط جیوه اندازه گیری گردید. تجزیه و تحلیل آماری نتایج با استفاده از آنـالیز واریـانس یک طرفه ANOVA و ANOVA و دوخه دادود.

یافته ها: نتایج به دست آمده نشان داد عصاره گیاه بیلهر به صورت وابسته به مقدار باعث کاهش معنی دار درد در مرحله حاد آزمون فرمالین می شود در حالیکه در مرحله مزمن فقط با مقدار حداکثر، درد کاهش می یابد. هم چنین یافته ها نشان داد عصاره این گیاه با مقدار حداکثر موجب کاهش ادم پا در آزمون کاراژینان می گردد.

نتیجه گیری: احتمالاً فلاوونوییدها با مهار فعالیت گیرندههای N متیل D –آسپارتات سبب کاهش کلسیم داخل سلولی می شوند و به دنبال آن فعالیت آنزیم سنتز کننده نیتریک اکساید و فسفو لیپاز A_2 وابسته به کلسیم کاهش می یابد و اثرات ضد دردی بروز می کند. به نظر می رسد اثرات ضد التهابی عصاره گیاه بیلهر از طریق کاهش پروستاگلاندین ها صورت می گیرد. بنابراین نتایج حاصل می تواند موید اثرات ضد دردی و ضد التهابی گیاه فوق باشد.

واژههای کلیدی: درد، التهاب، بیلهر، موش صحرایی

مقدمه

درد از جمله تجاربی است که هر انسانی در طول عمر خود $\dot{\epsilon}$ با آن مواجه می شود. درد از یک طرف هشداری برای آگاهی از

آسیب بافتی و از طرف دیگر احساس ناخوشایندی است که همواره روح و جسم انسان را مورد حمله قرار می دهد [۱]. به علت پیچیدگی و تظاهرات چندگانه درد، درمان درد حاد و

۱- (نویسنده مسئول) دانشیار گروه آموزشی زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون

تلفن : ۷۲۱-۲۲۳۹۹۳۳ ، ۵۰۸۰۱-۲۲۳۰، فاکس: ۷۲۱-۲۲۳۰۵۰۸ ، یست الکترونیکی : mokhtar_mokhtary @ yahoo.com

۲- استادیار گروه آموزشی زیستشناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون

۳– کارشناس ارشد گروه آموزشی زیستشناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون

در موش صحرایی نر مورد ارزیابی قرار گرفت. مطالعات سایر محققان نشان می دهد آزمون فرمالین یک روش متداول در ارزیابی درد مزمن است. آزمون فرمالین از این نظر با بیشتر مدلهای ارزیابی درد تفاوت دارد که امکان بررسی پاسخ دهی حیوان به دردهای مزمن و مداوم که در اثر صدمه بافتی ایجاد می شود میسر می گردد [۷]. تزریق زیر جلدی فرمالین، دردی دو مرحلهای ایجاد می کند که از مشخصههای مهم این روش ارزیابی درد است. احتمالاً نوروترانسمیترهایی از قبیل ماده P، برادی کینین، گلوتامات و سروتونین در ایجاد درد ناشی از فرمالین نقش دارند [۸].

آزمون کاراژینان یک روش بسیار حساس برای ارزیابی داروهای التهابی غیراستروییدی میباشد و به عنوان یک روش کارآمد جهت بررسی اثر ضد التهابی داروهای جدید به کارمی رود [۹]. امروزه از گیاهان و مواد استخراج شده از آنها نظیر مرفین، آتروپین، رزین، به طور گستردهای در درمان بیماریهای گوناگون در انسان استفاده می شود [۱۰]. تحقیق برای یافتن ترکیبات جدید ضد درد از دهه ۱۹۶۰ میلادی با سرعت و جدیت بیشتری شروع شده است که علت اصلی در این ارتباط دامنه وسیع آثار جانبی ضد دردهای کنونی بوده که استفاده از آنها را با محدودیتهایی روبرو کرده است [۳]. هماکنون به طور عمده دو دسته اصلی از مواد ضد درد یعنی اوپیوییدها (مخدرها) و داروهای ضد درد و ضد التهاب غیر استروییدی (شبه اَسپرینها) مورد استفاده قرار می گیرند که با وجود استفاده فراوان، آثار نامطلوب آنها نيز قابل توجه است. به عنوان مثال شبه آسپرینها، آسیبهایی را به دستگاه گوارش، کلیهها و سیستم عصبی مرکزی وارد میسازند و علاوه بر آن در برخی از بیماران مؤثر نیستند و حتی ایجاد تحمل نسبت به برخی از آنان گزارش شده است [۱۱]. در مورد داروهای ضد درد اوپیوییدی نیز مشکلاتی مانند مقاومت به دارو، وابستگی، سر خوشی، سوء استفاده و غیره وجود دارد [٣]. بنابراین طب سنتی که مواد خام گیاهی را به عنوان دست مایه اصلی خود به کار میبرد، در فرهنگ بسیاری از نقاط جهان از جمله در کشور ما از جایگاه ویژهای برخورداراست [۱۰]. مطالعه حاضر به بررسی اثرات ضد دردی مزمن موضوع بسیاری از تحقیقات بالینی و آزمایشگاهی است. شواهد زیادی مبنی بر دخالت سیستمهای نوروشیمیایی مانند سیستم اپیوییدی در کنتـرل درد در دسـت اسـت [۲] امـا داروهای اپیوییدی باعث بروز تحمل و وابستگی و بسیاری از عوارض جانبی دیگر میشوند. یکی از راه کارهای ممکن جهت دستیابی به داروهای ضد درد جدید با کاربری بالا و آثار محدود کننده کمتر، توجه به گیاهان داروییی و مواد طبیعی است و امروزه مطالعه گونههای گیاهی که به طور سنتی به عنوان ضد درد مصرف میشوند، یک استراتژی تحقیقاتی پر ثمر در راه تهیه داروهای ضد درد جدید محسوب می شود [۳]. گیاه بیلهر (Dorema aucheri) از خانواده چتریان (Umbelliferae) است که در اوایل فیصل بهار در برخی از استانها از جمله کردستان، لرستان، چهار محال بختیاری، فارس و کهگیلویه و بویراحمد رویش دارد. در رژیم غذایی ساکنان مناطق مذکور به عنوان چاشنی از ساقه و برگهای تازه آن استفاده می شود. گیاهی علفی پایا به طول ۱تا ۲ متر پوشیده از تار و دارای ریشه راست، دوکی شکل، ضخیم و منتهی به الیاف فیبر مانند در ناحیه یقه است. گلهای بسیار کوچک سفید رنگ عاری از دمگل و مجتمع در قسمت انتهایی دارد. چترهای آن نوعی فشردگی خاص نسبت به هم داشته و در ریشه حجیم آن مجاری ترشحی فراوان جایگزین است [۴]. بیلهر گیاهی است سرشار از فلاوونویید و اولین گیاه از خانواده چتریان است که این مواد را تراوش میکند [۵]. در گذشته صمغ این گیاه در طب سنتی در درمان برونشیتهای مزمن و آسم بکار رفته است [۴]. این صمغ در طب مکمل داروهای آنتی اسپاسمودیک و اکسپکتورانتها میباشد. هـمچنـین در برابر آسیبهای کبدی ایجاد شده توسط تتراکلریدکربن گیاه بیلهر دارای اثرات محافظتی است [۶]. برخبی عقیده دارند عصاره گیاه بیلهر در پایین آوردن فشار خون نیز مفید است. به دلیل عدم وجود بررسیهای علمی در مورد اثرات فارماکولوژیک و خواص بیولوژیکی آن و نیـز دارا بـودن انـواع فلاوونویید و با توجه به این که برخی از آنها دارای اثرات ضد دردی و ضد التهابی میباشند در این مطالعه اثرات ضد دردی

و ضد التهابي آن با استفاده از تست فرمالین و مدل کاراژینان

184

مون فرمالین و نیز اثرات ثانیه یکبار پاسخ حرکتی درد به صورت اعداد ۰، ۱، ۲ و ۳ مطابق روش (Dennis, Dubuisson) به شرح زیرثبت گردید ابی این عصاره و مواد [۱۳–۱۳].

صفر، حیوان در راه رفتن تعادل کامل داشت و وزنش روی هر دو پا توزیع شده بود.

۱- حیوان وزن بدن خود را روی پای تزریق شده تحمل نمی کرد و یا در موقع راه رفتن مشکل داشت.

۲- حیوان پنجه دردناک را بلند می کرد و هیچ گونه تماسی
 با کف محفظه نداشت.

۳- حیوان پنجه دردناک را میلیسید یا به شدت تکان میداد.

تعداد این دادههای کمی به صورت ۱۲ بلوک ۵ دقیقهای شمارش و بر اساس فرمول نمره درد(Pain score) در هر مقطع زمانی ثبت شد. ثبت دادهها تا ۶۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین ادامه یافت. میانگین نمره درد در هر بلوک طبق فرمول زیر محاسبه شد [۱۳–۱۳]:

در میانگین نمره درد T_3 , T_2 , T_1 , T_0 تعداد ۱۵ ثانیه هایی ۳، است که حیوان در یک دوره ۵ دقیقه ای به ترتیب رفتارهای ۳، ۲، ۱ و صفر را نشان داد. در کلیه گروه ها ۵-۰ دقیقه به عنوان مرحله حاد درد و زمان -8-81 دقیقه به عنوان مرحله مـزمن درد در نظر گرفته شد.

اثر ضد التهابی بیلهر نیز با استفاده از آزمون ادم حاصل از کاراژینان مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور موشها در گروههای ۸ تایی مورد استفاده قرار گرفتند. محلول ۱٪ کاراژینان (ساخت شرکت Fluka) در نرمال سالین یک ساعت کاراژینان (ساخت شرکت پیسه گردید. ۵۰ میکرولیت ر از سیش از هر آزمایش تهیه گردید. ۵۰ میکرولیت ر از آبی – الکلی گیاه بیلهر به کف پاهای حیوانهای مورد مطالعه تزریق گردید [۱۴]. تجویز عصاره بیلهر با مقادیر ۱۰۰، ۲۰۰ و تزریق گردید و گروه شاهد ۱ میلی گرم بر کیلوگرم انجام شد، گروه کنترل دارویی دریافت نکرد و گروه شاهد ۱ میلی لیتر آب مقطر (حلال عصاره) معادل حجم مصرفی گروههای تجربی دریافت کردند.

این گیاه در دو مرحله حاد و مزمن آزمون فرمالین و نیز اثرات ضد التهابی آن با آزمون کاراژینان پرداخته است تا پیشبینی اولیهای از اثرات ضد دردی و ضد التهابی این عصاره و مواد مؤثر آن که احتمالاً باعث این اثرات میشوند ارایه شود.

مواد و روشها

در این مطالعه تجربی حیوانات مورد استفاده ۸۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰-۱۹۰ گـرم بودند که از خانه پرورش حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی کازرون تهیه گردید. حیوانات به گروههای ۸ تـایی در ۱۰ قفس و در دمای ۲۲-۲۲ درجه سانتی گراد و در شـرایط آزمایـشگاهی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و نیز دسترسی آزادانه بـه آب و غذای کافی نگهداری شدند.

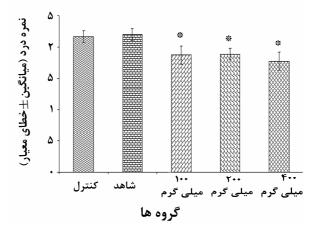
از اوایل فصل بهار در سال ۱۳۸۵ از کوههای اطراف شهر یاسوج مرکز استان کهگیلویه و بویر احمد بخشهای هوایی گیاه که مصرف خوراکی دارند جهت تهیه عصاره جمعآوری و در شرایط مناسب دور از نور آفتاب، خشک و سپس پودر شد. مقدار ۵۰۰ گرم پودر گیاه به نسبت مساوی با الکل اتیلیک و آب مقطر به روش خیساندن مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت نگهداری گردید. طی این مدت محتویات ظرف به طور متناوب تکان داده شد تا عصاره در الکل به طور کامل حل شود. سپس کردید. مایع سبز رنگ بسیار غلیظ به دست آمده بر روی کاغذ آلومینیومی ریخته و در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد در درون آنکوباتور قرار داده شد تا مخلوط خشک شود. در مرحله بعد مقادیر مورد نظر از عصاره در آب مقطر حل شد تا غلظتهای مقادیر مورد نظر از عصاره در آب مقطر حل شد تا غلظتهای

جهت بررسی اثرات ضد دردی عصاره از تست فرمالین استفاده شد. بدین منظور از ۸ سر موش صحرایی نر بالغ در هر گروه استفاده گردید. یک ساعت بعد از تجویز عصاره آبی – الکلی بیلهر با مقادیر ۲۰۰،۱۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، میزان ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۲/۵٪ به کف پای راست حیوان تزریق گردید و بلافاصله در محفظه آزمایش قرار داده شد [۶]. پاسخ رفتاری درد به کمک آینهای که با زاویه ۴۵ درجه نسبت به سطح افق در زیر محفظه تعبیه شده بود مشاهده و هـر ۱۵

حجم پای حیوان بلافاصله و در فاصله زمانی ۲/۵ ساعت پس از تزریق کاراژینان با استفاده از جیوه اندازهگیری شد. برای اندازه گیری حجم پا در جیوه، وزن پا در جیوه برچگالی جیوه تقسیم گردید. چگالی جیوه ۱۳/۶ گرم بر میلیلیتر میهباشد [۱۵]. تجزیه و تحلیل آماری نتایج بین گروهها با استفاده از آناليز واريانس T-Test, ANOVA انجام شد. اختلاف معنى دار بین گروهها p≤٠/٠۵ در نظر گرفته شد. نتایج به صورت انحراف معيار عميانگين نشان داده شد.

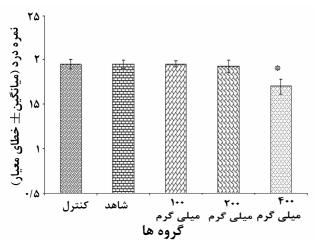
نتايج

همان گونه که در نمودار ۱ ملاحظه می گردد عصاره آبی -الكلى گياه بيلهر با مقادير ٢٠٠،١٠٠ و ۴٠٠ ميلي گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنی دار نمره درد در مرحله درد حاد ۵-۰ دقیقه آزمون فرمالین در مقایسه بـا گـروههـای کنتـرل و شاهد شده است ($p<\cdot/\cdot\Delta$). کاهش درد به صورت وابسته به دوز بوده و در مقادیر بیشتر اثرات موضعی بیشتری اعمال نموده است (نمودار ۱).



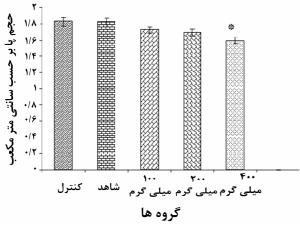
نمودار ۱- مقایسه میانگین نمسره درد در مرحله حاده-۰ دقیقه در موشهای نر دریافت کننده مقادیر مختلف عصاره گیاه بیلهـر بـا گـروه کنترل و شاهد. * (p≤٠/٠٥).

اثرات ضد دردی عصاره آبی - الکلی گیاه بیلهر درمرحله درد مـزمن (۶۰–۱۶) دقیقـه پـس از تزریـق فرمـالین ظـاهر مىشود. بررسى آمارى نتايج نشان مىدهد عصاره آبي - الكلى فقط با مقدار حداکثر باعث کاهش درد در مرحله مزمن درد می گردد ($p<\cdot/\cdot \Delta$) (نمودار ۲).



نمودار ۲- مقایسه میانگین نمره درد درمرحله مزمن (۲۰-۱۳ دقیقه) در موشهای نر دریافت کننده مقادیر مختلف عصاره گیاه بیلهر نسبت به گروه کنترل و شاهد. * (p<٠/٠٥)

نتایج حاصل از بررسی اثر ضد التهابی عصاره آبی – الکلی گیاه بیلهر با آزمون ادم حاصل از کاراژینان نشان میدهد عصاره گیاه با مقدار حداکثر یعنی ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنی دار التهاب در آزمون کاراژینان در مقایسه با گروه کنترل و شاهد می شود (نمودار ۳).



نمودار ۳- مقایسه میانگین التهاب القا شده توسط کاراژینان در موشهای نر دریافت کننده مقادیر مختلف عصاره گیاه بیلهـر بـا گـروه کنترل و شاهد * (p<-/-0)

بحث

براساس یافتههای حاصل از این تحقیق، عصاره آبی – الکلی گیاه بیلهر درد مرحله حاد آزمون فرمالین را در مقایسه با درد مزمن بیشتر کاهش میدهد. به نظر میرسد مرحله حاد درد ناشی از تزریق فرمالین و تحریک مستقیم گیرندههای درد و فعالیت فیبرهای عصبی نوع C باشد در حالی که در مرحله مزمن درد، مجموعهای از واکنشهای التهابی در بافت آسیب

دیده و تغییرات عملکردی در شاخ خلفی نخاع است که درد را ایجاد می کند [۱۳-۱۴]. این تغییرات عملکردی از تحریکات فیبرهای عصبی C در مرحله اول ناشی می شوند و به نظر می رسد موادی از قبیل ماده P، برادی کینین، هیستامین و پروستا گلاندین ها در این تحریک نقش داشته باشند [۸].

مطالعات ساير محققان نشان ميدهد عصاره گياه بيلهر حاوى فلاوونوپيدها است [۲] كه فلاوونوپيدها داراي اثرات ضد دردی و ضد التهابی میباشند. تأثیر مستقیم آنها بر سنتز پروستاگلاندینها به طور قطع مشخص شده است [۱۶]. فلاوونوییدها یکی از مهارکنندههای آنزیم سنتزکننده نیتریک اکساید به شمار میروند و مانع تولید NO می شوند که به دنبال تزریق فرمالین افزایش می یابد [۱۷]. از آن جا که NO ممکن است میانجی پر دردی باشد [۱۸]، بنابراین کاهش آن منجر به فعالیت ضد دردی می شود. همچنین تحقیقات انجام شده نشان مىدهد فلاوونوپيدها از طريق سيستم اپيوپيدى و سیستم آدرنرژیکی در تعدیل درد دخالت دارند [۲۰-۱۹]. ساير مطالعات نشان مىدهند فلاوونوييدها با مهار فعاليت گیرندههای N – متیل – D –آسپارتات سبب کاهش کلسیم داخل سلولی میشوند و به دنبال آن فعالیت آنزیم سنتز کننده نیتریک اکساید و فسفو لیپاز A₂ وابسته به کلسیم کاهش می یابد و در نتیجه با کاهش NO و پروستاگلاندین ها اثرات ضد دردی خود را نشان میدهند [۲۱-۲۲] مهار فعالیت آنزیم فسفولیپاز A2 باعث مهار تبدیل اسید فسفوتیدیک به اسید آراشیدونیک میشود و در نتیجه سنتز پروستاگلاندینها مهار می گردد [۲۱]. با توجه به شواهد موجود، فلاوونوییدها با مهار آنزیم سیکلو اکسیژناز تولید پروستاگلاندینها (E) را از اسید آراشیدونیک در پاسخ به محرکهای التهابی مهار میکنند [۲۳]. تاکنون دو نوع آنزیم سیکلواکسیژناز شناخته شده است. آنزیم سیکلو اکسیژناز ۱- به طور دایم سنتز می شود و پروستاگلاندین های حاصل از آن در بسیاری از بافتها نقشهای محافظت کننده دارند. آنزیم سیکلواکسیژناز ۲۰ در محل التهاب توليد مى شود و هميـشه وجـود نـدارد. مطالعـات نـشان مـىدهـد پروسـتاگلاندين (E) سـبب افـزايش قابليـت تحریک عصبی همانند التهابهای سطحی می شود. بنابراین

فلاوونوییــدها باعــث مهــار آنــزیم سیکلواکــسیژناز در ســنتز پروستاگلاندینها از اسید آراشیدونیک میشوند که در پاسخ به محرکهای التهابی روی میدهد در نتیجه از حساس شدن گیرندههای درد که به وسیله این مولکولها به وجود میآید جلوگیری می شود و احساس دردی را که به همراه این پاسخها مى باشد كم مى كند [٢٥-٢٣]. با توجه به اين كه التهاب بـه عنوان یک فرآیند محیطی مولد درد در فاز دوم تست فرمالین شناخته شده است [٣] و از طرفی اثر ضد التهابی فلاوونوییدها با مهار تولید سیتوکینهای التهابی نظیر عامل نکروز توموری (TNF) از ماکروفاژهای فعال شده در التهاب اعمال می گردد، این مواد پیش التهابی در التهاب سبب افرایش سنتز پروستاگلاندینها می گردند [۱۷]. بنابراین احتمال میرود بخشی از آثار ضد دردی این عصاره از آثار ضد التهابی آن ناشی شود. همچنین از بین ترکیبات دیگر گیاه به کمارینها و روغنهای ضروری یا ترینها نیز می توان اشاره کرد. از بین روغنهای ضروری گیاه بیلهر، ترکیب آلفا- اودسمول بلوک کننده کانالهای کلسیمی نوع P/Q حساس به امگـا توکـسین میباشد و از این طریق موجب مهار آزادسازی نوروترانسمیترها از پایانههای فیبرهای درد در شاخ خلفی نخاع می شود و در نهایت باعث کاهش درد می گردد [۲۶]. مطالعات سایر محققان نشان می دهد به کارگیری آنتاگونیست گیرنده های اپیوییدی (نالوکسان) باعث مهار عملکرد ضددردی کمارین ها می شود پس می توان نتیجه گرفت که بخشی از اثرات ضددردی گیاه بدنبال تداخل عمل با سیستم اپیوییدی به وجود می آید [۲۷].

نتيجهگيري

با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق و مطالعات سایر محققان به نظر میرسد اثرات ضد دردی و ضدالتهابی عصاره آبی – الکلی گیاه بیلهر را بتوان به فلاونوییدهای موجود در گیاه نسبت داد. هر چند مطالعات بیشتری لازم است تا بتوان در زمینه تعیین ماده مؤثر و میزان سمیت حاد و مـزمن آن دقیق تر پاسخ داد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از زحمات همکار گرامی و ارجمند جناب آقای حسن خواجهای صمیمانه سپاسگزاری می گردد.

References

- [1] Gyton A, Hall JF. Text book of medical physiology.9th ed, Philadelphia, W.B. Saunders. 1996; pp: 609-62.
- [2] Khotib J, Narita M, Suzuki M, Yajima Y, Suzuki T. Functional interaction among opioid receptor types: upregulation of mu- and delta-opioid receptor functions after repeated stimulation of kappa- opioid receptors. *Neuro pharmacology*, 2004; 46(4): 531-40.
- [3] Elisabetsky E, Amador TA, Albuquerque RR, Nunes DS, Carvalho Ado C. Analgesic activity of Psychotria colorata (Willd. ex R. & S.) Muell. Arg. alkaloids. *J Ethnopharmacol*, 1995; 48(2): 77-83.
- [4] Zargari A. Pharmaceutical plants. Volume 1, Tehran University press. 1997; pp: 211-2. [Farsi]
- [5] Wollenweber E, Dorr M, Rustaiyan A. Dorema aucheri the first umbelliferous plant found to produce exudates flavonoids. *Phytochem*, 1995; 38(6): 1411-5.
- [6] Sadeghi H, Ghaitasi I, Mazrooghi N, Sabzali S. The hepatoprotective effects of Dorema auchri on carbon tetrachloride induced liver damage in rats. J Shahrekord Univ Med Sci, 2007; 6(1): 38-43. [Farsi]
- [7] Dubuisson D, Dennis SG. The Formalin test: a quantitative study of yhe analgesic effects of Morphine, meperidine and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain*. 1977; 4(2): 161-78.
- [8] Willis W. Role of neurotransmitters in sensitization of pain responses. *Ann N Y Acad Sci*, 2001; 933: 142-56.
- [9] Just MJ, Recio MC, Giner RM, Cullar MJ, Manez A, Bilia AR, et al. Anti- inflammatory activity of unusual lupine saponins from Buupleurum fruticescens. *Plants Med*, 1998; 64(5): 404-7.
- [10] Bogh HO, Andreassen J, Lernmich J. Anti-helmintic usage of extracts of Embelia Schimperi from Tanzania. *J Ethnopharmacol*, 1996; 50(1): 34-42.
- [11] Walker JS, Levy G. Effect of multiple dosing on the analgesic action of diflunizal in rats. *Life Scr*, 1990; 46(10): 737-42.
- [12] Germano MP, Angelo VD, Sanogo R, Catania S, Alma R, De Pasquale R, et al. Hepatoprotective and antibacterial effects

- of extracts from Trichilia emetica Vahi (Meliaceae). *J Ethnopharmacol*, 2005; 96(1-2): 227-32.
- [13] Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The Formalin test: an evaluation of the method. *Pain*. 1991; 51: 17-25.
- [14] Chi SCH, Jun HW. Anti-inflammatory activity of ketoprofen gel on carrageenan- induced paw edema in rats. *J Pharm Sci*, 1990; 79: 974-7.
- [15] Fereidoni M, Ahmadiani A. Semnanian S, Javan M. An accurate and simple method for measurement of paw edema. J Pharmacol Toxicol Methods, 2000;43(1):11-4.
- [16] Alcaraz MG, Houli RS. Actions of flavonoids and the novel anti-inflammatory flavone, Hyperlactin-8-Glucoside, on prostaglandin biosynthesis and inactivation. *Biochem Pharmacol*, 1985; 34(14): 2477-82.
- [17] Toker G, Kupeli E, Memisoglu M, Yesilada E. Flavonoids with antinociceptive and anti- inflammatory activities from the leaves of Tilia argentea (silver linden). J Ethnopharmacology, 2004; 95(2-3): 393-7.
- [18] Mehmet O, Yagiz U, Mehmet G. Comparison of the effects of specific and nonspecific inhibition of nitric oxide synthase on morphine analgesia, tplerance and dependence in mice. *Life sciences*. 2003; 72: 1943-51.
- [19] Anjaneyulu M, Chopra K. Quercetin a bioflavonoid, attenuates thermal hyperalgesia in a mouse model of diabetic neuropathic pain. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2003; 27(6): 1001-5.
- [20] Kaur R, Singh D, Chopra K. Participation of Receptors in the Antinociceptive Activity of Quercetin. J Med Food, 2005; 8(4): 529-32.
- [21] Davidson EM, Coggeshal RE, Carlton SM. Peripheral NMDA and non-NMDA glutamate receptors contribute to nociceptive behaviors in the rat formalin test. *Neuroreport*. 1997; 8(4): 641-6.
- [22] Rang HO, Date MM, Ritter JM. Text book of Pharmacology.
 3d ed, New York, churchil, Living stone 1999; 148-76, 609-33.
- [23] Kupeli E, Tatli LL, Akdemir ZS, Yesilada E. Estimation of antinociceptive and anti-inflammatory activity on Geranium

- pretense subsp. finitinum and its phenolic compounds. *J Ethno Pharmacology*, 2007; 114(2): 234-40.
- [24] Katzung BG, Basic and clinical pharmacology, 6th ed, New York, Conn Appleton and lang co. Nor walk, connecticl. 1995; 466.
- [25] Ahmadiani A, Hosseiny J, Semnanian S, Javan M, Saeedi F, Kamalinajad M, et al. Antinociceptive and antiinflammatory effects of Elaeagnus angustifolia Fruit extract. *J Ethnopharmacology*, 2000; 72(1-2): 287-92.
- [26] Asakura K, Kanemasa T, Minagawa K, Kagawak K,

- Yagami T, Nakajima M, et al. A-Eudesmol, a P/Q- type ca channel blocker, inhibits neurogenic vasodilation and extravasodilation following electrical stimulation of trigeminal ganglion. *Brain Research*, 2000; 873(1): 94-101.
- [27] Leal LK, Ferreira AA, Bezerra GA, Matos FJ, Viana GSB.

 Anti-Nociceptive, anti-inflammatory and bronchodi_ lator activities of Brazilian medicinal plants containing coumarin: a comparative study. *J Ethnopharmacol*, 2000; 70(2): 151-9.

The Effect of Antinociceptive and Anti inflammatory of Hydro –Alcohol Extract of *Dorema aucheri* on FormalinTest and Carrageenan Model in Rats

M. Mokhtari¹, M. Shariati², H. Niknam³

Received: 16/12/07 Sent for Revision: 23/04/08 Received Revised Manuscript: 05/07/08 Accepted: 17/09/08

Background and Objectives: Considering the importance of extracts of Umbelliferae herbs, the present study aimed to investigate the antinociceptive and anti-inflammatory effects of hydro alcoholic extract of *Dorema aucheri*.

Material and Methods: In this experimental study, the experiments were performed on 80 male wistar rats weighting 190 to 200 grams, which were divided into 10 groups, each consisting of 8 rats.

To evaluate the antinociceptive effects, the formalin induced pain-test was used and for assessing anti- inflammatory effects, the carrageenan induced hind paw edema model in rats was used. All animals were pre-treated with an oral dose of extracts (100, 200, 400 mg/kg). The control group received no drug and the sham group at only received distilled water. The first 0-5 min, and 16-60 min after formalin injection were considered as acute and chronic phases, respectively. The paw volume measured in the mercury from 0 to 2 h and 30 min after carrageenan injection. Statistical analysis of the data was performed using ANOVA and t-test where appropriate.

Results: Results of this study showed that extracts of Diorama archery can significantly reduce the pain depending on the dose in acute phase (p<0.05). However, in chronic phase , the high dose of the extract could reduce the pain. These results also revealed that the highest dose of extract can reduce paw edema in carrageenan test.

Conclusions: It seems that flavonoids can probably reduce intracellular calcium through inhibiting of NMDA receptors. It also reduces activities of nitric oxide synthase enzyme and calcium dependent phospholipids A2, which results in antinociceptive effects. It may also be concluded that the anti-inflammatory effects of the extracts are through reduction of prostaglandins. Considering the above findings, *Diorama archery* as an antinociceptive and anti-inflammatory medicine could be introduced.

Key words: Pain, Inflammation, Dorema aucheri, Rat

Funding: This research was funded by Islamic Azad University, Kazeroun Banch.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Islamic Azad University, Kazeroun Banch approved the study.

¹⁻ Associate Prof., Dept. of Biology, Islamic Azad University, Kazeroun Branch, Iran (Corresponding Author) (0721) 2239933, Fax: (0721) 2230508, E- mail: mokhtar mokhtari@yahoo.com

²⁻ Assistant Prof., Dept. of Biology, Islamic Azad University, Kazeroun Branch, Iran

³⁻ Master of Biology, Islamic Azad University, Kazeroun Branch, Iran