مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره سیزدهم، شمارهٔ ۴، تیر ۱۳۹۰، صفحه ۱۸-۱۴

اثر عصاره گیاه شیرمال (Euphorbia Helioscopia) بر روی درد حاد و مزمن در موش سوری

منوچهر شیرانی(MSc)[۱]، زهرا علی بابایی(MSc)[۲]، سلیمان خیری(PhD)[۳]، هدایت اله شیرزاد(PhD)[۳]، فاطمه تاجی(MSc)[۲]،
اعظم عسگری(MSc)[۲]، محمود رفیعیان(PhD)[۳*]

۱- معاونت بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی شیراز
۲- گروه فیزیولوژی جانوری دانشگاه پیام نور اصفهان
۳- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

دریافت: ۸۹/۴/۶، اصلاح: ۸۹/۷/۱۴، پذیرش: ۸۹/۹/۱۷

خلاصه

سابقه و هدف: داروهای مسکن اکثرا عوارض زیادی دارند و نیاز به داروهای جایگزین با عوارض کمتر احساس می شود. شیرمال گیاهی است که مردم استان چهار محال و بختیاری آنرا به اشکال مختلف برای تسکین درد مورد استفاده قرار می دهند و در این تحقیق اثر عصاره الکلی اندام هوایی آن بر کاهش میزان درد حاد و مزمن مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روشها: این مطالعه مداخله ای بر روی ۱۰۰ موش نر بالغ نژاد Balb/c با محدوده وزنی ۳±۲۵ گرم که به ۱۰ گروه ده تایی تقسیم شدند، انجام گردید. گروه ۱ آب مقطر و هر کدام از موش های گروه ۲ تا ۷ به ترتیب ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۲ و ۸ میلی گرم در هر موش از عصاره را دریافت کردند. گروه ۸، ۶ میلی گرم بر کیلو گرم ایبوبروفن، گروه ۹، یک میلی گرم بر کیلوگرم نالوکسان و گروه ۱۰ نالوکسان و عصاره را تواما" دریافت کردند. مدت زمان واکنش (ثانیه) موش ها تا ۳۰ دقیقه پس از دریافت ۲۰ میکرولیتر فرمالین ۱/۵٪ در گروههای دریافت کننده عصاره با نتایج گروه شاهد مقایسه شد. عصاره گیری با استفاده از اتانول ۹۶٪ به طریق ماسراسیون انجام و توسط تقطیر در خلاء تغلیظ شد. عصاره غلیظ شده در آب مقطر حل و دوز های مختلف عصاره تهیه شد.

یافته ها: در ۵ دقیقه اول (مرحله درد حاد) بین گروه کنترل و گروه عصاره ۸ میلی گرم در هر موش و در ۲۵ دقیقه دوم (مرحله درد مزمن) بین گروه کنترل و گروه عصاره های ۰/۱ و ۸ میلی گرم در هر موش اختلاف معنی دار مشاهده شد ($p<0/05$). نالوکسان قادر به برگشت دادن اثر ضد درد عصاره نبود.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که عصاره شیرمال دارای اثر مسکنی است که این اثر از طریق سیستم های غیر اوپیوئیدی اعمال می شود.

واژه های کلیدی: *درد، گیاهان دارویی، موش سوری، گیاه شیرمال.*

مقدمه

اخیرا خواص ضد درد برخی از گیاهان مورد توجه قرار گرفته است. از جمله این گیاهان گونه های گیاهی جنس افوربیا می باشند، که خانواده آن شامل ۳۰۰ جنس و متجاوز از ۸۰۰ گونه است. در غالب نواحی کره زمین بجز مناطق قطبی و قله کوههای مرتفع، این خانواده از گیاهان پراکنده اند. جنس افوربیا شامل گیاهان یک پایه، دارای گل های نر یک پرچمی با میله زانودار، گل های ماده با تخمدان سه برچه ای، گل آذین سیاتیوم و میوه کپسول سه قاب است و به دو دسته علفهای یک ساله با دوره زندگی کوتاه و گیاهان چند ساله و پایا تقسیم می شوند (۲و۱). برخی خواص بیولوژیک و خصوصا درمانی گونه هایی از جنس افوربیا مورد مطالعه قرار گرفته است. از آن جمله خاصیت ضد لیشمانیایی عصاره گیاه شیرمال (Euphorbia myrsinites) و خاصیت ضد دردی برخی دی ترپنوئیدهای استخراج شده از Euphorbia decipiens می باشد (۱). در مطالعه ای که بر روی گیاه شیرمال در چین انجام شد، بالغ بر۲۴ نوع دی ترپنوئید از عصاره گیاه

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۷۱۴ دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد می باشد.
* مسئول مقاله:
آدرس: شهرکرد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، تلفن: ۳۳۴۶۶۹۲-۰۳۸۱
e-mail:rafieian@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.13.4.2.7]

مورد مطالعه جدا شد. تعدادی تری ترپنوئید، فلاونوئید، تانن، استروئید و لیپید نیز جدا شد که قبلا" در گونه های دیگر جنس افوربیا هم یافت شده بود (۳). وجود فلاونوئید ها و استروئید در این گونه به اثبات رسیده است (۱). وجود فلاونوئید ها و استروئیدها و اثرات ضد دردی برخی از آنها در گونه Euphorbia decipiens نیز گزارش شده است (۴).

خواص گوناگونی نظیر ضد سرفه، ضد آلرژی، ضد تومور، ضد آسم، اثر محدود کنندگی بر تیروزیناز قارچ برای گیاه شیرمال (Euphorbia decipiens) گزارش شده ولی تاکنون خواص ضد دردی عصاره شیرمال مورد مطالعه قرار نگرفته است (۷-۵).

با نگاهی به مصرف انبوه داروهای مسکن در جوامع کنونی و عوارض جانبی این داروها در گروههای عادی بیماران و نیز محدودیت های استفاده از آنها در گروه های خاص نظیر زنان باردار، لزوم مطالعه پیرامون داروهای جایگزین گیاهی و صناعی بشدت احساس می شود. لذا این مطالعه به منظور بررسی اثر ضد دردی عصاره شیرمال بر روی موش های سوری نژاد Balb/c با استفاده از روش فرمالین انجام شد.

مواد و روشها

روش عصاره گیری: ابتدا گیاه شیرمال(Euphorbia helioscopia)، زیر نظر متخصص گیاه شناسی مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد از منطقه گندمان چهارمحال و بختیاری پس از شناسایی، جمع آوری شد. بعد از خشکاندن بخش هوایی گیاه در سایه و در دمای مناسب و پودر کردن، الکل اتیلیک ۹۶٪ به آن اضافه شد. بدین منظور ۱۰۰۰ گرم گیاه خشک شده پودر و داخل ظرف شیشه ای مناسب ریخته و به آن ۲۰۰۰ میلی لیتر اتانول ۹۶٪ اضافه شد تا روی پودر را بپوشاند (به طوری که حدوداً ۳/۵ سانتی متر الکل از سطح پودر حاصل بالاتر بود). پس از ۳ روز عصاره را با استفاده از قیف و کاغذ صافی، فیلتره نموده (این عمل دو مرتبه تکرار شد) و عصاره جمع شده گیاه، به دستگاه تقطیر در خلاء منتقل و در حرارت پائین تغلیظ شد. عصاره بدست آمده معادل ۱۰/۱ گرم عصاره خشک بود. سپس عصاره در حجم مشخصی از آب مقطر حل شد تا غلظت های مورد نظر از عصاره به دست آید

بررسی اثر ضد درد عصاره گیاه شیرمال: در این مطالعه تجربی، ۱۰۰ سر موش سوری نر بالغ نژاد Balb/c با محدوده وزنی ۳±۲۵ گرم مورد استفاده قرار گرفت. جهت ایجاد تطابق با محیط جدید، موشهای خریداری شده از مرکز انسیتو پاستور تهران برای یک هفته در محل حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد با رعایت دمای ۲۵-۲۱ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

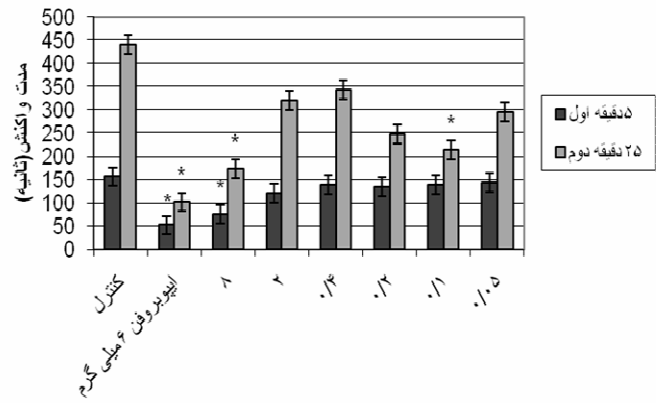
طی این مدت محدودیتی از نظر آب و غذای استاندارد (پلت) برای حیوانات وجود نداشت. یک هفته بعد، وزن کلیه موشها اندازه گیری و ثبت شد. در این روش پانزده دقیقه بعد از تزریق عصاره، ۲۰ میکرولیتر از محلول فرمالین ۱/۵٪ به عنوان عامل ایجاد درد به صورت زیر جلدی (SC) به کف پای راست حیوان تزریق شد و بلافاصله پس از تزریق فرمالین به حیوان، پاسخ در برابر درد در محدوده زمانی ۳۰ دقیقه ثبت شد. پاسخ در برابر درد عبارت بود از زمان هایی که صرف لیسیدن، گاز گرفتن و بالا نگه داشتن پای تزریق شده بر حسب ثانیه می شد (۸). موشها بصورت تصادفی در ده گروه ۱۰ تایی قرار گرفتند. گروه ۱ آب مقطر و هر کدام از موش های گروه ۲ تا ۷ به ترتیب ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۲ و ۸ میلی گرم در هر موش از عصاره را دریافت کردند.

گروه ۸، ایپوبروفن دریافت کرد (آیبوپروفن از شرکت شیمی داروئی امین تهیه شد، در نرمال سالین حل گردید و با دوز ۶ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن، به صورت داخل صفاقی تزریق شد) (۸). گروه ۹ نالوکسان را با دوز ۱ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن و گروه۱۰ عصاره و نالوکسان را بصورت تزریق زیر جلدی (SC) دریافت کردند (۹). از ایپوبروفن با دوز ذکر شده به عنوان کنترل مثبت (داروی ضد درد، از دسته ضد التهاب های غیراستروئیدی) استفاده شد. پانزده دقیقه بعد از تزریق ایپوبروفن یا عصاره به میزان ۰/۲۵ میلی لیتر به صورت داخل صفاقی، مقدار ۲۰ میکرولیتر از محلول فرمالین ۱/۵٪ (به صورت زیر جلدی) تزریق و بلافاصله مدت زمان واکنش موشها نسبت به درد به مدت ۳۰ دقیقه شمارش شد (۹و۸).

درد حاصل از تزریق فرمالین در ۵ دقیقه اول درد حاد و در ۲۵ دقیقه پس از تزریق فرمالین، درد مزمن نامیده شد (۹و۸). نتایج با استفاده از آزمونهای آماری کروسکال والیس و Student T-Test تجزیه و تحلیل و $p<0.05$ معنی دار تلقی شد.

یافته ها

عصاره شیرمال پانزده دقیقه قبل از فرمالین تزریق و باعث مهار درد در موش سوری شد. در ۵ دقیقه اول (مرحله درد حاد) بین گروه کنترل و گروه عصاره ۸ میلی گرم در هر موش اختلاف معنی داری مشاهده شد ($p<0.05$). در ۲۵ دقیقه دوم (مرحله درد مزمن) نیز بین گروه کنترل و گروه عصاره های ۰/۱ و ۸ میلی گرم در هر موش اختلاف معنی دار بود ($p<0.05$). ایپوبروفن به عنوان کنترل مثبت با دوز ۶ میلی گرم بر کیلوگرم که به صورت داخل صفاقی تزریق شده بود با گروه کنترل اختلاف معنی داری داشت ($p<0.05$) (نمودار شماره ۱).

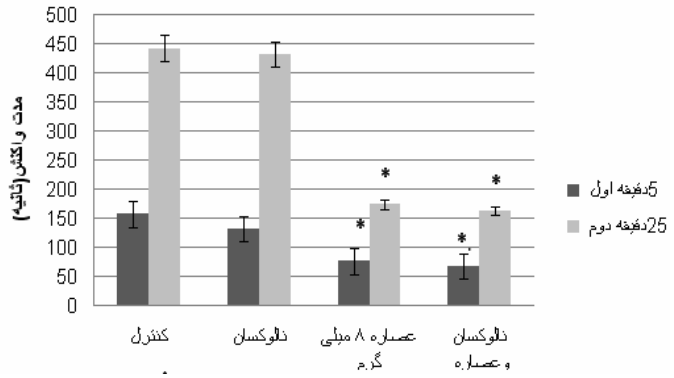


نمودار ۱. تاثیر غلظت های مختلف عصاره شیرمال به درد ناشی از تزریق فرمالین در موش سوری

*$p<0.05$ نسبت به گروه کنترل.

نالوکسان به تنهایی نسبت به گروه کنترل اثر ضد دردی از خود نشان نداد و تاثیری روی اثر ضد درد عصاره mg/mouse ۸ نیز نداشت ($p>0.05$) (نمودار شماره ۲).

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.13.4.2.7]



نمودار ۲. اثر نالوکسان بر اثر ضد درصد عاصره شیرمال به روش فرمالین در موش سوری

* $p<۰/۰۵$ نسبت به گروه کنترل.

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه عصاره الکلی گیاه شیرمال با مقدار ۸ میلی گرم در هر موش باعث کاهش معنی دار نمره درد در مرحله درد حاد (۵-۰ دقیقه) و در دوزهای ۰/۱ و ۸ میلی گرم در هر موش موجب کاهش معنی دار درد در مقایسه با گروه کنترل، درمرحله درد مزمن (۳۰-۶ دقیقه) شد. در توجیه اثر ضد دردی عصاره با دوز نسبتا" پایین ۰/۱ میلی گرم در هر موش در مقایسه با دوز بالاتر عصاره یعنی ۰/۲، ۰/۴ و ۲ قبلا نیز نشان داده شد که بعضی از فلاونوئیدها به دلایل ناشناخته ای در غلظت های پایین تر دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتر و دارای قدرت اثر بخشی بهتری بوده اند(۱۰). به نظر میرسد درد مرحله حاد ناشی از تزریق فرمالین، با تحریک مستقیم گیرنده های درد و فعالیت عصبی فیبرهای نوع c در ارتباط باشد (۱۱). در هنگام درد مزمن سلول های میکروگلیا آزاد سازی کاتاپسین S (Cathepsin S) را فعال و باعث آزاد سازی واسطه گرهای التهابی می گردد. میانجی های التهابی به گیرنده های خود در سطح نورون ها متصل می شوند و در نتیجه همه این موارد درد ایجاد می شود (۱۲). فلاونوئید های موجود در عصاره گیاهان با مهار سیکلواکسیژناز، لیپواکسیژناز و فسفولیپاز A در بافت ملتهب شده، به طور مستقیم بر سنتز پروستاگلاندین ها اثر می گذارند و مانع از تشکیل پروستاگلاندین ها می شوند (۱۳). فلاونوئید ها یکی از مهار کننده های آنزیم سنتز کننده نیتریک اکساید نیز به شمار می روند و مانع تولید نیتریک اکسید می شوند که به دنبال تزریق فرمالین افزایش می یابد (۱۰). مطالعات نشان دادند که فلاونوئید ها با مهار فعالیت گیرنده های N-متیل-D-آسپارتات سبب کاهش کلسیم داخل سلولی می شوند و به دنبال آن فعالیت آنزیم سنتز کننده نیتریک اکساید و فسفولیپاز A وابسته به کلسیم کاهش می یابد، با کاهش نیتریک اکساید و پروستاگلاندین ها اثرات ضد دردی ظاهر می شود (۱۲).

با توجه به نتایج این مطالعه عصاره گیاه شیر مال، دارای خواص ضد دردی است و ممکن است جایگزین مناسبی برای داروهای شیمیایی ضد درد در بافت ملتهب باشد. به نظر می رسد استروئید ها و به خصوص فلاونوئید های موجود در عصاره این گیاه با مهار فسفولیپاز مانع از تشکیل پروستاگلاندین ها شوند. ترکیبات موجود در این گیاه به ویژه فلاونوئیدهای موجود در عصاره با فعال کردن مسیرهای عصبی متعددی سبب کاهش درد و التهاب می شوند که نیاز به تحقیقات بیشتری دارد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری و مراکز تحقیقات گیاهان دارویی و سلولی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و همچنین از کلیه پرسنل این مراکز تقدیر و تشکر می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.13.4.2.7]

Effect of Euphorbia Helioscopia Extract on Acute and Chronic Pain in Mice

M. Shirani (MSc)[1] , Z. Alibabaei (MSc)[2], S. Kheiri (PhD)[3], H. Shirzad (PhD)[3], F. Taji (MSc)[2], A. Asgari (MSc) [2], M. Rafieian (PhD) [3*]

1. Vice Chancellery for Health, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
2. Department of Physiology, Isfahan Payam-Noor University, Isfahan, Iran
3. Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

J Babol Univ Med Sci; 13(4); Jul 2011
Received: Jun 27th 2010, Revised: Oct 6th 2010, Accepted: Dec 8th 2010.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Most of analgesics have side effects and introducing new drugs is essential. Euphorbia helioscopia is a medicinal plant which is used by people in Chaharmahal Bakhtiary province of Iran as a painkiller. This experiment was performed to study the analgesic effect of an alcoholic extract from the aerial parts of Euphorbia helioscopia by formalin test.

METHODS: In an experimental study 100 Balb/c mice were divided into 10 groups as follows: group 1 received distilled water, group 2 to 7 received 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 2 and 8mg/mouse of alcoholic extract, respectively. Group 8 received 6 mg/kg ibuprofen, group 9, 1 mg/kg naloxone and group 10 received naloxone and extract. The pain-related behavior was counted for a period of 30 min, following injection of 20 microliter of 1.5% formalin. The data obtained in case groups were compared with the ones in control group. The plant was extracted by maceration method using ethanol 96%. The extract was then concentrated and reconstructed in normal saline to produce different desired concentrations.

FINDINGS: In the first 5 minutes (acute period) of the experiment 8mg/mouse of the extract and in the following 25 minutes, 0.1 and 8mg/mouse of the extract reduced pain reaction, compared to control group ($p<0.05$). Naloxone had no effect on this effect of the extract.

CONCLUSION: Euphorbia helioscopia has antinociceptive activity that is not due to interaction with opioid system.

KEY WORDS: *Pain, Medicinal plant, Mouse, Euphorbia helioscopia.*

[*] **Corresponding Author;**
Address: Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
Tel: +98 381 3346692
E-mail: rafieian@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.13.4.2.7]

References

1. Aynehchi Y. Pharmacognosy and medicinal plants. 1st ed. Tehran: University Press Center 2002; pp: 387-91. [in Persian]
2. Jassbi AR. Chemistry and biological activity of secondary metabolites in Euphorbia in Iran. Phytochemistry 2006; 67(18):1977-84.
3. Tyler E, Brady R, Robbers E. Pharmacognost. 9th ed. Philadelphia: Lea and Febiger 1998; p: 441.
4. Ahmad VU, Hussain H, Bukhari IA, Hussain J, Jassbi AR, Dar A. Antinociceptive diterpene from Euphorbia decipiens. Fitoterapia 2005;76(2):230-2.
5. Zargare A. Medicinal plants. Tehran: University Press Center 1992; pp: 619-23. [in Persian]
6. Zhang W, Guo YW. Chemical studies on the constituents of the Chinese medicinal herb, Euphorbia helioscopia L. Chem Pharm Bull 2006;54(7):1037-9.
7. Samsam-Shariat H. Medicinal plants propagation. 1st ed. Tehran: Mani Publication 1990; pp: 409-10. [in Persian]
8. Ahmadiani AH, Semnanian S, Fereydouni M. Suppression of acute and chronic pain in male rats by alcoholic extract of Sambucus ebulus. Physiol Pharmacol 2000;1(2):123-8. [in Persian]
9. Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine and brain stem stimulation in rats and cats. Pain 1977;4(2):161-74.
10. Naderi GhA, Asgari S, Movahedian A, Sabet B, Shirvani H. Anti-oxidant effects of some natural pure flavonoids on susceptibility of LDL to oxidation. J Isfahan Med Sch 2006;22(74-75):57-62. [in Persian]
11. Luongo L, Sajic M, Grist J, Clark AK, Maione S, Malcangio M. Spinal changes associated with mechanical hypersensitivity in a model of Guillain-Barre syndrome. Neurosci Lett 2008;437(2):98-102.
12. Toker G, Kupeli E, Memisoglu M, Yesilada E. Flavonoids with antinociceptive and anti-inflammatory activities from the leaves of Tilia argentea. J Ethnopharmacol 2004;95(2-3):393-7.
13. Waez Mahdavi MR. Methods of research on pain. 1st ed. Tehran: Shahed University Publication 1993; p: 41. [in Persian]

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.13.4.2.7]