

# اثر ضد دردی عصاره متانولی گیاه گل ساعت در موش صحرائی نر بالغ

محمد زارعی<sup>۱</sup>، سعید محمدی<sup>۲</sup>، مهتاب عسگری نعمتیان<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران، <sup>۲</sup>گروه بیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان، همدان، ایران، <sup>۳</sup>گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۵/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۸/۱۸

## چکیده

**زمینه و هدف:** در طب سنتی، گیاه گل ساعت به عنوان تسکین دهنده درد و آرام کننده ناراحتی‌های با منشأ عصبی استفاده می‌شود. هدف این مطالعه بررسی اثر ضد دردی عصاره متانولی گیاه گل ساعت در موش صحرائی نر مورد بالغ بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی از ۴۲ سر موش صحرائی نر در ۷ گروه شامل: کنترل، گروه‌های تیمار شده با عصاره ۸۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت درون صفاقی، مرفین (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم درون صفاقی)، ایندومتاسین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و نالوکسان (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به همراه دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره استفاده شد. به منظور ارزیابی اثرات ضد دردی عصاره از آزمون‌های ریتینگ، تیل فلیک و فرمالین استفاده شد. داده‌ها با آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون توکی تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** دوزهای ۳۰۰-۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره، اثر مهارى معنی‌داری بر پاسخ فاز مزمن تست فرمالین و تست ریتینگ داشت  $p < 0/05$ . هر چند که افزایش در زمان جهش دم با عصاره دیده شد، ولی این مورد از اثر القاء شده با مرفین نسبت به کنترل، کمتر بود. اثر ضد دردی دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در فاز مزمن فرمالین به صورت معنی‌داری بیشتر از ایندومتاسین بود ( $p < 0/001$ ).

**نتیجه‌گیری:** اثر ضد دردی گل ساعت به خصوص در فاز مزمن تست فرمالین مشاهده شد، که این اثر ممکن است به دلیل وجود فلاونوئید و تانن‌های موجود در گیاه باشد که در گذشته اثرات ضد دردی آن‌ها به اثبات رسیده است.

واژه‌های کلیدی: ضد درد، عصاره متانولی، برگ گیاه گل ساعت، فرمالین، موش صحرائی

\*نویسنده مسؤل: سعید محمدی، همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم پایه، گروه بیولوژی

Email: mohammadi.saeed53@gmail.com



مقدمه

درد یکی از مشکلات اساسی جوامع امروزی و هشدار به منظور آسیب بافتی است (۱ و ۲). سابقه درمان بیماری‌ها با گیاهان دارویی به قدمت تاریخ زیست انسان بر روی کره زمین است. انسان به حکم تجربه، علم و بنا به مقتضیات زمان به کمک گیاهان دارویی بسیاری از بیماری‌های خود را مداوا کرده و می‌کند. گرایش عمومی جامعه به استفاده از داروها و درمان‌های گیاهی و به طور کلی فرآورده‌های طبیعی به ویژه در طی سال‌های اخیر رو به افزایش بوده و مهم‌ترین علل آن، اثبات اثرات مخرب و جانبی داروهای شیمیایی از یک طرف و از سوی دیگر ایجاد آلودگی‌های زیست محیطی است که کره زمین را تهدید می‌کند، می‌باشد (۳). در حال حاضر ۲۵ درصد از داروهای موجود در بازار دارویی جهان منشاء گیاهی دارند. ضمن آن که طبق آمار سازمان جهانی بهداشت حدود ۸۰ درصد از مردم جهان، در کشورهای در حال توسعه و فقیر زندگی می‌کنند که به دلیل گران بودن داروهای سنتتیک، عدم دسترسی و وجود عوارض جانبی این داروها، عمده‌ترین نیازهای درمانی خود را از گیاهان دارویی تأمین می‌کنند. این عوامل باعث شده در سال‌های اخیر تحقیقات بسیار گسترده‌ای بر روی گونه‌های ویژه‌ای از این گیاهان که دارای اثرات مناسبی بر روی بسیاری از بیماری‌های بشر دارند، صورت گیرد (۴ و ۵).

یکی از این گیاهان، گل ساعت<sup>(۱)</sup> با نام رایج گل احساس آبی<sup>(۲)</sup> یکی از ۴۰۰ گونه متعلق به خانواده پسیفلوراسه<sup>(۳)</sup> است. گل ساعت گیاهی علفی، پایا، زینتی و دارای ساقه سبز و پیچک‌دار و برگ‌هایی منفرد با ظاهر پنجه‌ای می‌باشد. این گیاه در نواحی حاره آمریکا، جزایر آنتیل و اسپانیا می‌روید (۶). به علاوه به علت زیبایی گل‌هایش، در ایران نیز در نواحی شمالی کشور به عنوان یک گیاه زینتی پرورش می‌یابد (۷). در منابع طب سنتی برای گل ساعت، اثرات درمانی متعددی مانند؛ آرام کننده ناراحتی‌هایی با منشاء عصبی، بی‌خوابی، مایخولیا، اضطراب و ضعف اعصاب و تسکین دهنده درد اشاره شده است (۸). بخش‌های مختلف آن از جمله برگ‌ها، گل‌ها و میوه‌های این گیاه دارای ارزش دارویی می‌باشند. در طب نوین نیز مشخص شده که عصاره برگ این گیاه دارای اثرات آرام‌بخشی و ضد اضطرابی، ضد تشنجی، ضد اسپاسمی و ضد التهابی می‌باشد (۹-۱۱).

بر اساس ادعای طب سنتی پیرامون اثرات گل ساعت و نیز به دلیل عدم وجود مطالعات علمی معتبر در زمینه بررسی اثر ضد دردی آن، در این مطالعه برای اولین بار به بررسی اثر ضد دردی و سمیت حاد عصاره متانولی برگ گل ساعت در موش صحرایی نر پرداخته شد.

۱-Passiflora caerulea L  
۲-passion blue flower  
۳-Passifloraceae

## روش بررسی

در این مطالعه تجربی، مقدار ۱ کیلوگرم برگ تازه گیاه گل ساعت در تیر ماه سال ۱۳۹۱ تهیه شد و سپس به وسیله گیاه شناس دانشگاه بوعلی سینا همدان مورد تأیید قرار گرفت. پس از جداسازی دمبرگ ها، برگ های گل ساعت در دمای اتاق (۲۵ درجه) و در سایه خشک گردید. سپس با آسیاب مکانیکی به صورت پودر خشک درآمد. مقدار ۱۰۰ گرم از پودر برگ خشک شده گیاه در یک لیتر متانول ۸۰ درصد به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شد، تا مواد مؤثره مورد نیاز استخراج شود. مخلوط حاصل پس از صاف شدن در دستگاه روتاری قرار داده شد و سپس حلال آن جدا گردید و به مدت یک هفته دیگر در زیر هود در درون یک ظرف پتری به منظور خشک شدن قرار داده شد. پس از گذشت یک هفته، از آنچه در ته ظرف باقی مانده بود (عصاره گیاه)، به منظور تیمار رت های نر با دوزهای مختلف عصاره در مقدار مناسب سرم فیزیولوژی (کلرور سدیم ۰/۹ درصد) حل شد.

تعداد ۴۲ 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 ساعت ۷ صبح)، شرایط دمایی  $22 \pm 1$  درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۵۵-۵۰ درصد نگهداری شدند. حیوانات با دسترسی آزاد به آب و غذای مخصوص در قفس های فلزی نگهداری می شدند.

حیوانات حداقل ۲ ساعت قبل از انجام آزمایش به شرایط آزمایشگاه عادت داده شدند. آزمایش مورد نظر بین ساعات ۸ صبح تا ۱۲ ظهر انجام شد. آزمایش ها مورد تأیید شورای پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران قرار گرفته بر طبق دستورالعمل های اخلاقی انجمن بین المللی مطالعه درد<sup>(۱)</sup> در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام شد (۱۲). حیوانات در ۷ گروه ۶ تایی شامل؛ گروه کنترل (تحت اثر سرم فیزیولوژی)، گروه تحت اثر مرفین (۱ میلی گرم بر کیلوگرم)، گروه تحت اثر ایندومتاسین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، اثر گروه های تیمار شده با دوزهای کم، متوسط و زیاد گیاه گل ساعت (به ترتیب به مقدار ۸۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و گروه تیمار شده با نالوکسان (۱ میلی گرم بر کیلوگرم) به همراه دوز متوسط عصاره (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) تقسیم شدند.

در تست ریتینگ در روز آزمایش به منظور عادت کردن حیوانات به محیط، هر یک از آنها ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش در جعبه استاندارد شیشه ای مذکور قرار داده شدند. عصاره هیدروالکی برگ گیاه مذکور در مقادیر مشخصی از سرم فیزیولوژی استریل حل شده و با دوزهای ۸۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی تزریق گردید. پس از گذشت ۱۵ دقیقه اسید استیک به حجم ۰/۱ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن با

۱- International Association for Study of Pain

داخل جعبه مخصوص تست فرمالین منتقل شدند، این جعبه مخصوص از جنس پلکسی گلاس و در ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ سانتی متر ساخته شده بود و به منظور مشاهده بهتر حرکات حیوان، آینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه زیر آن و روبروی فرد مشاهده کننده قرار می‌گرفت. ۳۰ دقیقه پس از تزریق درون صفاقی داروها، ۵۰ میکرولیتر فرمالدئید ۲/۵ درصد به کف پای راست حیوان به صورت زیرجلدی تزریق شد و حیوان مجدداً به جعبه مخصوص تست برگردانده شد و رفتار حیوان مورد بررسی قرار گرفت و 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 نمی‌کرد و یا از پای تزریق شده مراقبت می‌کرد، عدد ۲، برای وقتی که حیوان پنجه دردناک را بلند می‌کرد و هیچ گونه تماسی با کف محفظه نداشت، عدد ۳، برای زمانی که حیوان پنجه دردناک را می‌لیسید، می‌جوید یا به شدت تکان می‌داد. میانگین ۵ دقیقه ابتدای هر تست به عنوان فاز اول تست فرمالین (فاز حاد) و میانگین دقایق ۶۰ - ۱۵ تست به عنوان فاز دوم تست فرمالین (فاز مزمن) محسوب شد (۱۵).

غلظت ۰/۶ درصد تزریق شد و بلافاصله پس از تزریق درون صفاقی اسید استیک، تعداد انقباضات شکمی (به گونه‌ای که هر دو پای موش کاملاً کشیده گردد) به مدت ۳۰ دقیقه شمارش گردید. در ضمن هر حیوان فقط یکبار مورد استفاده قرار گرفت (۱۳). در گروه کنترل نیز بعد از تزریق درون صفاقی سرم فیزیولوژی تست ریتینگ انجام شد.

در تست تیل فلیک، این آزمایش با استفاده از دستگاه تیل فلیک، مدل تی اف - ۵۵۰۰ ساخت شرکت برج صنعت ایران انجام گرفت. آزمون بر اساس مدل ارائه شده قبلی انجام شد (۱۴). شدت نور مورد استفاده برابر با ۷ (درجه روی دستگاه) بود و از مدت زمان مرجع ۱۰ ثانیه به عنوان زمان قطعی نوردهی<sup>(۱)</sup> 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 تأخیر در کشیدن دم در سه مرتبه و به فاصله دو دقیقه، قبل و ۲۰ دقیقه بعد از تزریق دارو یا عصاره اندازه‌گیری شده و میانگین آنها به عنوان زمان تأخیر قبل و بعد از دارو محسوب و ثبت گردید. مرفین به صورت درون صفاقی به حیوانات تزریق شده و زمان جهش دم در حیوانات ثبت شد.

جهت انجام تست فرمالین از مدل پیشنهادی دابسون و دنیس<sup>(۲)</sup> به منظور ارزیابی درد مزمن استفاده شد. بدین صورت که حیوانات ۱ ساعت قبل از تست به منظور عادت کردن با شرایط آزمایش به

۱-Cut off time

۲-Dennis & Dubuisson

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

تعیین سمیت حاد (LD<sub>50</sub>)<sup>(۱)</sup> حاد بر اساس مدل آزمایشگاهی قبلی به انجام رسید (۱۶). دوزهای مختلف عصاره به صورت درون صفاقی و مجزا به موش‌های صحرایی نر تزریق شدند. میزان مرگ و میر حیوانات تا ۷۲ ساعت بعد از تزریق شمارش گردید و LD<sub>50</sub> عصاره گیاه تعیین گردید.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون توکی تجزیه و تحلیل شدند.

#### یافته‌ها

میزان سمیت حاد (LD<sub>50</sub>) عصاره، به صورت داخل صفاقی ۴۴/۷۵۷۹ گرم بر کیلوگرم بود.

نتایج مطالعه در تست ریتینگ نشان داد که تزریق دوزهای ۸۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکی گل ساعت در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۵). همچنین مقایسه تعداد ریتینگ در بین گروه‌های مرفین و ایندومتاسین نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۵) (نمودار ۱).

در تست تیل فلیک تزریق دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکی گل ساعت در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۵). از سویی تزریق مرفین، ایندومتاسین و تزریق نالوکسان به همراه

عصاره با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۵) (نمودار ۲).

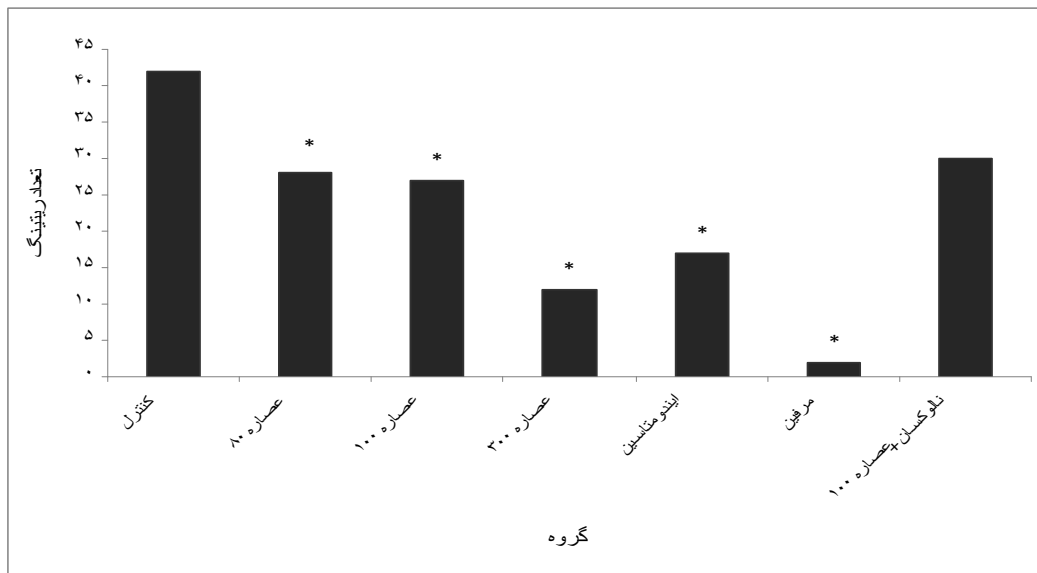
در تست فرمالین تزریق دوزهای مجزای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره، ایندومتاسین و تزریق مرفین سبب کاهش نمره درد در فاز حاد این تست گردید (p<۰/۰۵). این درحالی است که تزریق دوزهای ۸۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ عصاره هر سه سبب کاهش معنی‌دار درد در فاز مزمن این تست شدند (p<۰/۰۵). همچنین تزریق مرفین، ایندومتاسین و تزریق نالوکسان به همراه عصاره با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۵) (نمودار ۳).

#### بحث

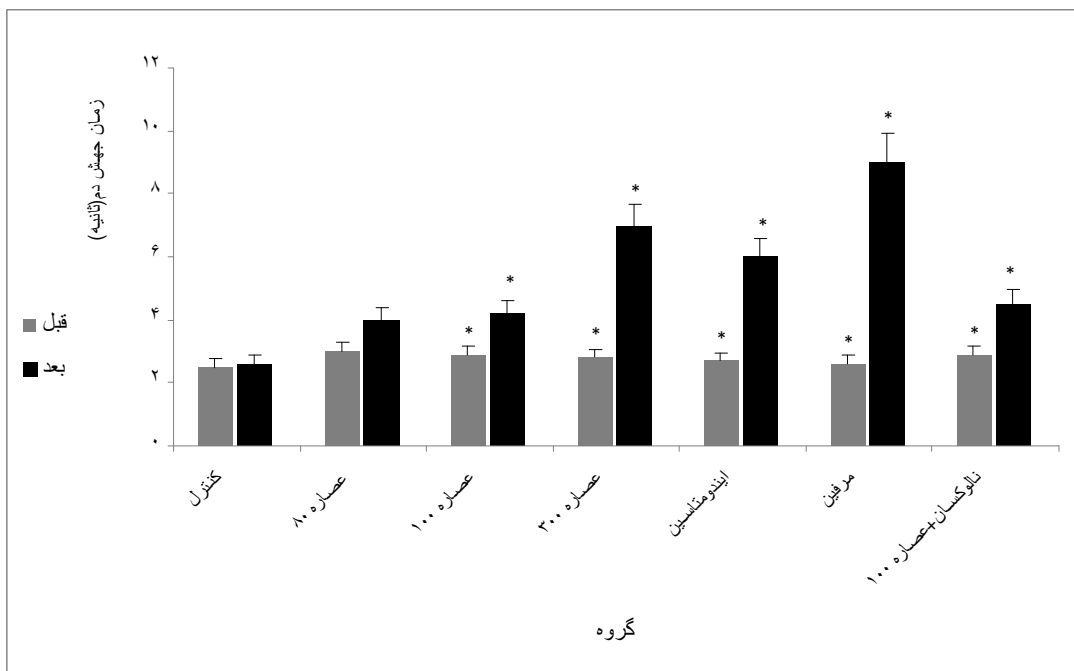
گیاهان دارویی منبع مهمی از مواد شیمیایی جدید، با اثرات درمانی بسیار قوی می‌باشند (۱۷). استفاده از گیاهان دارویی به منظور درمان درد و التهاب در طب سنتی ایران نوعی رسم و عادت می‌باشد، حال آن‌که در بیشتر موارد منشاء و اساس فعالیت این گیاهان ناشناخته مانده است. لیکن ارزیابی اثرات داروشناسی عصاره خالص این گیاهان می‌تواند به عنوان یک راهبرد پژوهشی منطقی به منظور یافتن داروهای جدید باشد (۱۹ و ۱۸).

۱- Median Lethal dose (MLD)

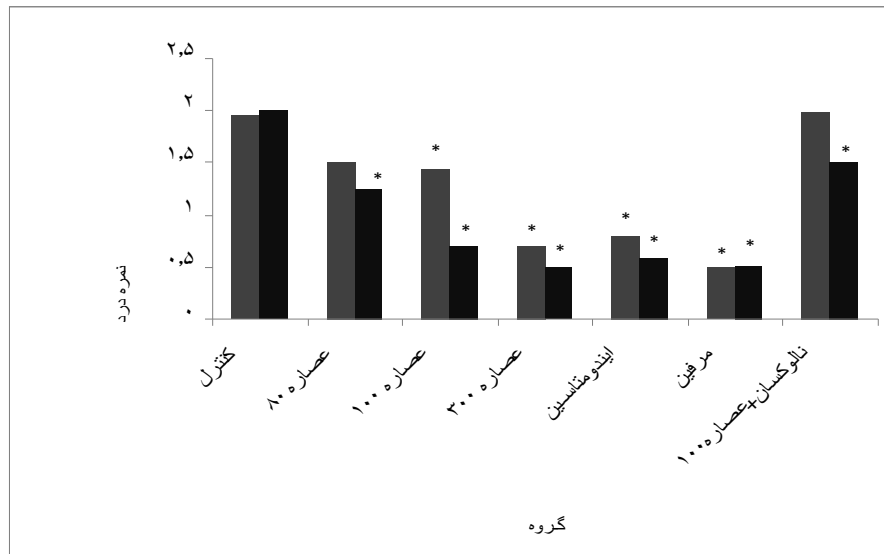
۲- Dennis & Dubuisson



نمودار ۱: مقایسه میانگین تعداد ریتینگ موش صحرایی نر با غلظت های مختلف عصاره ی برگ گیاه گل ساعت در آزمون اسید استیک  
\* اختلاف معنی دار با گروه کنترل ( $p < 0.05$ )



نمودار ۲: مقایسه زمان جهش دم در بین گروه های مورد آزمایش در قبل و بعد از تیمار  
\* اختلاف معنی دار با گروه کنترل ( $p < 0.05$ )



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

\* اختلاف معنی دار با گروه کنترل ( $p < 0.05$ )

فلیک گردید. بنابراین عصاره احتمالاً با اثر بر گیرنده های اوپیوئیدی به ویژه گیرنده  $\mu$  توانسته است اثر ضد دردی خود را اعمال کند. اثرات مهاري عصاره می تواند از طریق اتصال به گیرنده های درد، کانال های حساس به لیگاند را تحت تأثیر قرار داده و کانال های وابسته به ولتاژ یون کلسیم را، در انتهای پیش سیناپسی نوروون مسدود سازد و در نتیجه رهاسازی نوروترانسمیترها را کاهش دهند و یا باعث باز شدن کانال های پتاسیمی و به موجب آن هیپرپلاریزاسیون و مهار پس سیناپسی نوروون شوند (۲۲).

تست فرمالین آزمونی معتبر به منظور ارزیابی اثرات ضد دردی محیطی (حاد) و مرکزی (مزمن) می باشد. داروهایی با تأثیر بر اعصاب مرکزی از قبیل مخدرها باعث مهار هر دو فاز حاد و مزمن درد فرمالین می گردند، در حالی که داروهایی با اثر محیطی مثل آسپیرین تنها مانع فاز مزمن می شود (۲۶-۲۳). این مطالعه نشان داد که عصاره باعث مهار هر دو فاز درد

تست ریتینگ به منظور شناسایی مکانیسم های محیطی مورد استفاده قرار گرفته و اسید استیک مورد استفاده در این تست می تواند سبب فعال سازی ترکیبات اندورنی چون؛ برادی کینین، سرتونین، هیستامین و ماده p گردد. نتایج حاصله نشان داد که عصاره متانولی گیاه گل ساعت مانع انقباضات شکمی ناشی از اسید استیک گردید (نمودار ۱). بنابراین یک احتمال ممکن در ایجاد اثر ضد دردی عصاره می تواند به سبب مهار آزاد سازی ترکیبات اندورن (متابولیت های اسید آراشیدونیک) باشد و حدس زده می شود که اثرات تسکینی آن با مکانیزم های محیطی حمایت می گردد (۲۰).

تست تیل فلیک آزمونی اختصاصی به منظور تعیین اثرات ضد دردی مرکزی می باشد و به وسیله رفلکس های نخاعی حمایت می گردد. داروهای نارکوتیک نظیر؛ مرفین، پتیدین و پنتازوسین می توانند سبب افزایش مدت زمان تأخیر در آزمون تیل فلیک شدند (۲۱). در این مطالعه عصاره گل ساعت شبیه مرفین که یک مسکن با فعالیت مرکزی است باعث مهار پاسخ به درد آزمون تیل



اکسیدانی آن به اثبات رسیده است که به واسطه مهار سیکلواکسیژناز ۲، سیتوکین های التهابی و مهار سنتز نیتریک اکساید انجام می‌گیرد (۴۳-۳۹). از دیگر فلاونوئیدهای مهم این گیاه لوتئولین می‌باشد، که دارای اثر ضد التهابی است و با توجه به ارتباط نزدیک فرآیندهای التهابی با درد، احتمالاً می‌تواند به عنوان ترکیبی ضد درد مطرح باشد (۴۴). ترکیب ویژه دیگری که در عصاره این گیاه وجود دارد تانن می‌باشد و گزارش‌های مختلفی مبنی بر نقش تانن‌ها در ایجاد اثرات ضد دردی و ضد التهابی وجود دارد (۴۶ و ۴۵). بنابراین بخش دیگری از اثرات ضد دردی عصاره گیاه می‌تواند به دلیل وجود تانن‌های موجود در آن باشد.

#### نتیجه‌گیری

در مجموع ای-ن مطالعه نشان داد، عصاره متانولی برگ گیاه گل ساعت دارای خواص ضد دردی است و می‌تواند جایگزین مناسبی برای داروهای شیمیایی ضد دردی باشد. به نظر می‌رسد فلاونوئیدها و تانن‌های موجود در عصاره با فعال کردن مسیره‌های عصبی متعددی سبب کاهش درد شود که نیاز به پژوهش‌های بیشتر دارد. مطالعه بر روی چگونگی اثر عصاره گل ساعت بر گیرنده‌ها و بر همکنش عصاره با ناقلین عصبی یا آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های آن‌ها و نیز تست‌های بیوشیمیایی درد می‌تواند مسیره‌های عصبی دقیق تحت تأثیر این عصاره را مشخص کند.

#### تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی جانوری، مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان است که با حمایت مالی این دانشگاه انجام شد.

القایی فرمالین می‌شود، بنابراین عصاره توانست اثرات ضد دردی محیطی و مرکزی را از خود نشان دهد.

بررسی‌های فیتوشیمیایی برگ گل ساعت، حضور ترکیباتی چون فلاونوئیدها (مشتقات C-گلیکوزیده آپی ژنین، کریزین، لوتئولین، ایزوویتکسین، اورینتین و ایزواورنیتین) و تانن‌ها را به اثبات رسانده‌اند (۲۷ و ۱۱، ۱۰، ۹). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که اثرات ضد دردی و ضد التهابی عصاره گیاهان می‌تواند به دلیل وجود ترکیبات فلاونوئیدی و تانن‌ها باشد. از سویی مطالعات دیگر ثابت کرده‌اند که اثرات ضد دردی و ضد التهابی ترکیبات فلاونوئیدی نظیر آپی ژنین، کریزین و لوتئولین بیشتر از ترکیبات غیر فلاونوئیدی است (۲۸-۳۲).

گزارش شده که فلاونوئیدها دارای اثرات ضد دردی می‌باشند و این اثرات می‌تواند به واسطه مهار سیکلواکسیژنازها و یا مهار آزاد سازی نیتریک اکساید اعمال شود (۳۴ و ۳۳). آپی ژنین یکی از عمومی‌ترین فلاونوئیدهای موجود در گل ساعت است که تا کنون اثرات ضد التهابی، ضد سرطانی و ضد اکسیدانی آن مشخص شده است، همچنین سبب مهار تکثیر سلولی، التهاب و متاستاز می‌گردد. از سویی آپی ژنین تجمع لپیدهای شناور را که برای سیگنال کردن پدیده درد ضروری هستند، کم می‌کند. نتایج نشان داده‌اند که فلاونوئیدها با مهار فعالیت گیرنده N-متیل-D-آسپاراتات<sup>(۱)</sup>، سبب کاهش کلسیم داخل سلولی می‌گردد و به دنبال آن فعالیت آنزیم سنتزکننده نیتریک اکساید و فسفولیپاز A<sub>2</sub> وابسته به کلسیم کاهش می‌یابد. در نتیجه با کاهش نیتریک اکساید و پروستاگلاندین‌ها، به ویژه پروستاگلاندین E<sub>2</sub> و F<sub>2α</sub>، اثرات ضد دردی خود را نشان می‌دهند (۳۸-۳۵). همچنین کریزین، فلاونوئیدی مشتق از گل ساعت می‌باشد که اثر ضد التهابی و ضد

## REFERENCES:

۱. Goldman L, Bennett JC. Cecil textbook of medicine. ۲۱<sup>th</sup> ed. Philadelphia: WB. Saunders; ۲۰۰۰; ۱۰۳.
۲. Wal PD, Melozoc R. Textbook of pain. ۲<sup>nd</sup> ed. New York: Churchill livingstone; ۲۰۰۶; ۳۳۲-۴.
۳. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev ۱۹۹۹; ۱۲: ۵۶۴-۸۲.
۴. Magaji M G, Anuka JA, Abdu I, Yaro AH, Hussaini IM. Preliminary studies on anti-inflammatory and analgesic activities of *Securinega virosa* (Euphorbiaceae) in experimental animal models. J Med Plant Res ۲۰۰۸; ۲(۲): ۳۹-۴۴.
۵. Huang ZR, Lin YK, Fang JY. Biological and pharmacological activities of squalene and related compounds: Potential Uses in Cosmetic Dermatology. Molecules ۲۰۰۹; ۱۴: ۵۴۰-۵۴.
۶. Dana E, Hill MI, Elorza M, Sanz E, Nephew J, Mota F. Contribution to the knowledge of Xenofit in Spain: provisional catalog of non-native flora of Almeria Contribution to the knowledge of xenophytes in Spain: Provisional check-list of alien plants in Almeria. Acta Botanica Malacitana ۲۰۰۱; ۲۶: ۲۶۴-۷۶.
۷. Mozaffarian VA. Dictionary of Iranian Plant Names. Tehran: Farhang Moaser; ۱۹۹۶; ۳۹۶.
۸. Zargari A. Medicinal Plants. Tehran: Tehran University Publications; ۱۹۹۰; ۴۲-۵.
۹. Dhawan K, Dhawan S, Sharma A. Passiflora: a review update. J Ethnopharmacol ۲۰۰۴; ۹۴: ۱-۲۳.
۱۰. Speroni E, Billi R, Pellegrino NC, Minghetti A. A Role of Chrysin in the sedative effects of *Passiflora caerulea*. Phytother Res ۱۹۹۶; ۱۰: ۹۸-۱۰۰.
۱۱. Dhawan K, Kumar S, Sharma A. Comparative biological activity study on *Passiflora caerulea* and *P. edulis*. Fitoterapia ۲۰۰۱; ۷۲: ۶۹۸-۷۰۲.
۱۲. Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. Pain ۱۹۸۳; ۱۶: ۱۰۹-۱۱.
۱۳. Collier HOJ, Dinneen LC, Johnson CA, Schneider C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. Br J Pharmacol ۱۹۶۸; ۳۲: ۲۹۵-۳۱۰.
۱۴. D'Amour FE, Smith DL. A method of determining loss of pain sensation. J Pharmacol Exp Ther ۱۹۴۱; ۲۷: ۷۴-۷.
۱۵. 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 ۱۹۷۷; ۴: ۱۶۱-۷۴.
۱۶. Lorke DA. New approach to acute toxicity testing. Archives of Toxicology ۱۹۸۳; ۵۴(۴): ۲۷۵-۸۷.
۱۷. Calixto JB. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal view. J Ethnopharmacol ۲۰۰۵; ۱۰۰: ۱۳۱-۴.
۱۸. Javan M, Ahmadiani A, Semnanian S, Kamalinejad M. Antinociceptive effects of *Trigonella foenum /graecum* leaves extract. J Ethnopharmacol ۱۹۹۷; ۵۸: ۵-۱۲۹.
۱۹. Nafisy AT. A review of traditional medicine in iran. Isfahan University Publications Isfahan ۱۹۸۹; ۸(۱۱): ۱۲۱.
۲۰. Bentley GA, Newton SH, Starr J. Evidence for an action of morphine and the enkephalins on sensory nerve endings in the mouse peritoneum. British Journal of Pharmacology ۱۹۸۱; ۷۳: ۳۲۵-۳۲.
۲۱. Vogel HG. Drug discovery and evaluation, pharmacological assays. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag; ۲۰۰۲; ۶۷۰-۷۲۳.
۲۲. Fields HL, Basbaum AJ. Central nervous system mechanisms of pain modulation. The textbook of pain. New York: Churchill Livingstone; ۱۹۹۴; ۲۴۳-۵۱.
۲۳. Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. Pain ۱۹۹۲; ۵۱: ۵-۱۷.
۲۴. Hochian P, Capet C, Colin R. Digestive Complications of aspirin. Rev med intern ۲۰۰۰; ۲۱: ۵۰-۹.
۲۵. 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 ۲۰۰۶; ۳۱۹: ۵۰۷-۱۴.
۲۶. Clark SJ, Follenfant RL, Smith TW. Evaluation of opioid-induced antinociceptive effects in anaesthetized and conscious animals. Brit J Pharmacol ۱۹۸۸; ۹۵: ۲۷۵-۸۳.
۲۷. Williams CA, Harborne JB, Newman M, Greenham J, Eagles J. Chrysin and other leaf exudate flavonoids in the genus *Pelargonium*. Phytochemistry ۱۹۹۷; ۴۶: ۱۳۴۹-۵۳.
۲۸. Bittar M, de Souza MM, Yunes RA, Lento R, DelleMonache F, Cechinel Filho V. Antinociceptive activity of I<sup>3</sup>, II<sup>8</sup>-binaringenin, a biflavonoid present in plants of the Guttiferae. Planta Med ۲۰۰۰; ۶۶: ۸۴-۶.

۲۹. Calixto JB, Beirith A, Ferreira J, Santos AR, Cechinel Filho V, Yunes RA. Naturally occurring antinociceptive substances from plants. *Phytother Res* ۲۰۰۰; ۱۴: ۴۰۱-۱۸.
۳۰. Galati EM, Monforte MT, Kirjavainen S, Forestieri AM, Trovato A, Tripodo MM. Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (Note I): anti-inflammatory and analgesic activity. *Farmaco* ۱۹۹۴; ۴۰: ۷۰۹-۱۲.
۳۱. Ramesh M, Rao YN, Rao AV, Prabhakar MC, Rao CS, Muralidhar N, et al. Antinociceptive and anti-inflammatory activity of a flavonoid isolated from *Caralluma attenuata*. *J Ethnopharmacol* ۱۹۹۸; ۶۲: ۶۳-۶.
۳۲. Simoes CM, Schenkel OE, Bauer P, Langeloh LA. Pharmacological investigations on *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC, Compositae. *J Ethnopharmacol* ۱۹۸۸; ۲۲: ۲۸۱-۹۳.
۳۳. Alcaraz MG, Houli RS. Action of flavonoids and the novel anti-inflammatory flavone, Hyperlactin- $\alpha$ -Glucoside, on prostaglandin biosynthesis and inactivation. *Biochem Pharmacol* ۱۹۸۵; ۳۴(۱۴): ۲۴۷۷-۸۲.
۳۴. Rang HP, Dale MM, Ritter JM. Text book of pharmacology. ۳<sup>rd</sup> ed. New York: Churchill Livingstone; ۱۹۹۹; ۱۴۸-۵۵.
۳۵. Dickenson AH. Neurophysiology of opioid poorly responsive pain. *Cancer Surv* ۱۹۹۴; ۲۱: ۵-۱۶.
۳۶. Perry LM, Lily M, Metzger J. Medicinal plants of east and sought-east Asia. Pub of Cambridge. London: Mit Press; ۱۹۸۰; ۴۱۳-۱۶.
۳۷. Taiwo YO, Levine JD. Prostaglandin effects after elimination of indirect hyperalgesic mechanisms in the skin of the rat. *Brain Res* ۱۹۸۹; ۹۲: ۳۹۷-۹.
۳۸. Woodman OL, Chan E. Vascular and anti-oxidant actions of flavonols and flavones. *Clin Exp Pharmacol Physiol* ۲۰۰۴; ۳۱: ۷۸۶-۹۰.
۳۹. Cho H, Yun CW, Park WK, Kong JY, Kim KS, Park Y, et al. Modulation of the activity of pro-inflammatory enzymes, COX-۲ and iNOS, by chrysin derivatives. *Pharmacol Res* ۲۰۰۴; ۴۹: ۳۷-۴۳.
۴۰. Woo KJ, Jeong YJ, Park-kwon TK. Chrysin induced apoptosis is mediated through caspase activation and akt inactivation in U9۳۷ leukemia cell. *Biochem Biophys Res Commun* ۲۰۰۴; ۵۳: ۳۲۵-۳۴.
۴۱. Medina JH, Paladín AC, Wolfman C, De Stein ML, Calvo D, Díaz LE, Pena C. Chrysin (۵,۷-di-OH-flavone), a naturally occurring ligand for benzodiazepine receptors, with anticonvulsant properties. *Biochem Pharmacol* ۱۹۹۰; ۴۰(۱۰): ۲۲۲۷-۳۱.
۴۲. Habtemariam S. Flavonoids as inhibitors or enhancers of the cytotoxicity of tumor necrosis factor-alpha in L-۹۲۹ tumor cells. *J Nat Prod* ۱۹۹۷; ۶۰: ۷۷۵-۸.
۴۳. Lapidot T, Walker MD, Kanner J. Antioxidant and prooxidant effects of phenolics on pancreatic beta-cells in vitro. *J Agric Food Chem* ۲۰۰۲; ۵۰: ۷۲۲۰-۲۵.
۴۴. Ziyao L, Yongmei Z, Nan Z, Ning T, Baolin L. Evaluation of anti-inflammatory activity of luteolin in experimental animal models. *Planta Med* ۲۰۰۷; ۷۳(۳): ۲۲۱-۶.
۴۵. Starec M, Waitzová D, Elis J. Evaluation of the analgesic effect of RG-tannin using the "hot plate" and "tail flick" method in mice. *Cesk Farm* ۱۹۸۸; ۳۷: ۳۱۹-۲۱.
۴۶. Vargas AJ, Geremias DS, Provensi G, Fornari PE, Reginatto FH, Gosmann G, et al. *Passiflora alata* and *Passiflora caerulea* spray dried aqueous extracts inhibit Inflammation in mouse model of pleurisy. *Fitoterapia* ۲۰۰۷; ۷۸: ۱۱۲-۱۹.

# Evaluation of the antinociceptive effect of methanolic extract of *Passiflora caerulea.L* in adult male rat

Zarei M<sup>1</sup>, Mohammadi S<sup>2\*</sup>, Asgari Nematian M<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Physiology, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran, <sup>2</sup>Department of Biology, Islamic Azad University of Hamadan, Hamadan, Iran, <sup>3</sup>Department of Biology, Payam-noor University, Hamadan Branch, Tehran, Iran

Received: 17 Aug 2012

Accepted: 09 Nov 2012

## Abstract

**Background & aim:** In traditional medicine, *Passiflora caerulea* is used as a pain relieving and neurogenic malaise. The aim of this study was to evaluate the analgesic efficacy of *Passiflora caerulea* extract in mature male rats.

**Methods:** In this study, 42 adult male rats were divided into 6 groups: control, MEPC (10, 100 and 300 mg/kg, i.p.) Morphine (1 mg/kg, i.p.), indomethacin (10 mg/kg, i.p.), and naloxone (100 mg/kg, i.p.) were used. In order to evaluate the analgesic effect of the extract, test ratings, tail-flick and formalin were used. The data were analyzed by ANOVA and Tukey test.

**Results:** 10-300 mg doses of the extract showed significant inhibitory effects on the response of chronic phase of formalin test and the ratings test ( $p < 0.05$ ). Although there was an increase in tail flick extract, but in this case, the effect induced by morphine was lower compared to controls. The analgesic effect doses of 300 mg kg of indomethacin was significantly higher than chronic phase of formalin ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** The analgesic effect of *Passiflora caerulea*, especially in the chronic phase of formalin test was observed, this effect may be due to the presence of flavonoids and tannins found in plants, which its analgesic effect has been proven in the past.

**Key words:** Antinociception, Methanolic extract, *Passiflora caerulea* leaf, Formalin, Rat

\*Corresponding author: Mohammadi S, Department of Biology, Islamic Azad University, Hamadan, Iran

Email: mohammadi.saeed23@gmail.com