ارزیابی اثرات عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی بر درد حاد، مزمن و احشایی در موش کوچک آزمایشگاهی

عباسعلی طاهریان [۱*](M.D)، حمیدرضا ثامنی [۲](Ph.D)، شیما شریفی [۳](M.D Student)، محمدمهدی طاهریان [۳](M.D Student)، محمدحسین طاهریان [۳](M.D Student)

۱- مرکز تحقیقات فیزیولوژی ، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۲ - مرکز تحقیقات سلول های بنیادی سیستم عصبی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۳- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۳ - ۳۳۶۵۴۳۶۰ taherian 99@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۷/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۵/۸

چکیده

هدف: پروپولیس یک محصول طبیعی تولید شده به‌وسیله زنبور عسل است که در طب سنتی برای درمان بیماری‌های متفاوتی مورد استفاده قرار می‌گرفته است. با توجه به خاصیت ضد التهابی گزارش شده از پروپولیس، در این مطالعه اثرات ضد دردی عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی به صورت داخل صفاقی بر دردهای حاد، مزمن و احشایی و با استفاده از آزمون‌های ارزیابی درد Hot plate Tail flick, Formalin, و Writhing مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۱۹۲ سر موش سوری جوان (آلبینو) در محدوده وزنی ۲۵ تا ۳۰ گرم در ۲۴ گروه ۸ تایی مورد استفاده قرار گرفتند. عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش و وهیکل ۳۰ دقیقه قبل از ارزیابی درد و مرفین به عنوان داروی استاندارد ضد درد، به‌طور داخل صفاقی تزریق شدند. درد حاد و مزمن در آزمون‌های ارزیابی درد Hot Plate و Tail Flick و Formalin و درد احشایی در مدل Writhing مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: عصاره پروپولیس ایرانی در همه دوزها در مقایسه با گروه کنترل سبب افزایش معنی‌داری در زمان تحمل به درد در آزمون‌های Hot Plate و Tail Flick شد (P<۰/۰۱) در آزمون Formalin، تزریق عصاره پروپولیس در مقایسه با گروه کنترل به صورت معنی‌داری منجر به کاهش درد در هر دو فاز نوروژنیک و التهابی شد (P<۰/۰۱) پیش درمانی با عصاره پروپولیس به صورت داخل صفاقی تعداد و زمان انقباضات شکمی را در آزمون Writhing در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد (P<۰/۰۱).

نتیجه‌گیری: یافته‌های فوق نشان داد عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی دارای اثرات ضد دردی در شرایط دردهای حاد و مزمن دارد.

واژه‌های کلیدی: پروپولیس، درد مزمن، درد حاد، درد احشایی، موش کوچک آزمایشگاهی

مقدمه

درد از معمول‌ترین تظاهرات اکثر بیماری‌ها و یک تجربه حسی ناخوشایندی ناشی از تحریکات در یک بافت صدمه‌دیده یا وضعیت‌های فیزیولوژیکی غیر طبیعی با مکانیزم‌های پیچیده و متفاوت است. کنترل درد و به‌خصوص درد احشایی که باعث محدودیت توانایی، کیفیت و فعالیت‌های عمومی زندگی شخص می‌شود به‌عنوان یک معضل پزشکی است [۲،۱]. امروزه برای درمان درد و التهاب از داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی (NSAIDs) و اوپیوئیدها استفاده می‌شود. استفاده طولانی‌مدت از (NSAIDs) منجر به زخم گوارشی و عوارض ناخواسته و بروز تحمل و وابستگی فیزیکی و روانی متعاقب مصرف اپیوئیدها می‌شود که کاربرد این داروها را محدود نموده است [۴،۳]. توجه به نتایج مطالعات در مورد درگیر بودن گیرنده‌های اپیوئیدی و گابا ارژیک در تعدیل درد حاد، نوروپاتیک و التهابی [۵-۸] به انتخاب نوع دارو در تسکین درد کمک می‌کند. اثرات ضد دردی و عقیده بر عوارض جانبی کم در گیاهان دارویی و مواد طبیعی در طب مردمی منجر به روی‌آوری به گیاهان دارویی و مواد به‌دست آمده از آن‌ها شده است.

پروپولیس (Propolis) یا بره موم از جمله مواد طبیعی است که در طب سنتی ملل مختلف از جمله ایران کاربرد پزشکی

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

[DOI: 10.29252/koomesh.22.1.170]

زیادی داشته و اثرات درمانی متعددی مانند خواص ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌باکتریالی، آنتی‌توموری، آنتی‌ویروسی و... برای آن ذکر شده است [۹-۱۱]. پروپولیس مشتق از رزین (صمغ) گیاهان مختلفی است که توسط زنبورعسل جمع‌آوری و پس از اضافه کردن ترشحاتی به آن برای حفاظت دیواره داخلی، درزهای کندو، مورد استفاده قرار می‌گیرد. بیش از ۳۰۰ ترکیب مختلف نظیر پلی‌فنل‌ها (فلاونوئیدها، اسیدهای فنولی)، استرها، مونوترپن‌ها، آمینواسیدها، استرویدها، اسید کافئیک و ترکیبات غیرآلی دیگر در ساختار پروپولیس یافت شده که میزان این ترکیبات به مکان، زمان و منابع گیاهی مورد استفاده زنبور عسل بستگی دارد و می‌تواند بر روی اثرات فارماکولوژیکی آن اثر مستقیم داشته باشد [۹-۱۱]. تنوع ترکیبات پروپولیس، رنگ (زرد تا قهوه‌ای تیره، سبز و قرمز)، فلور گیاهی، منطقه جغرافیایی، زمان و مکان تولید توسط زنبور عسل و همچنین نوع عصاره‌گیری (الکلی، استنی و آبی)، منجر به بروز اثرات متفاوت در پروپولیس و ایجاد بزرگ‌ترین چالش استفاده از پروپولیس در درمان بیماری‌های مختلف شده است [۱۲-۱۴]. برای مثال در عصاره الکلی ترکیبات لیپوفیلیک بیش‌تری یافت می‌شوند و به همین علت این نوع عصاره بیش‌تر مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته در حالی‌که از عصاره آبی پروپولیس بیش‌تر با اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی نام برده می‌شود. اثر ضد دردی پروپولیس را ناشی از وجود فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و تانن‌ها می‌دانند. نتایج ضد و نقیض منتشر شده از اثرات ضد دردی پروپولیس موارد فوق را تایید می‌کند [۱۵-۲۱]. به همین علت در تعداد زیادی از مقالات منتشر شده در مجلات علمی معتبر بین‌المللی حتی در عنوان مقاله، رنگ و مکان تهیه پروپولیس را ذکر می‌کنند که می‌توان به پروپولیس سبز برزیلی، قرمز، بلغاری، الجزایری، مصری ترکیه و ایرانی اشاره کرد [۱۵-۲۲،۱۹]. طی مطالعات قبلی مشخص شده که پروپولیس ایرانی دارای ترکیباتی از قبیل: فلاونوئیدها، اسیدهای آلیفاتیک و آروماتیک، استرها، قندها، گلیسرول، اسید فسفریک، ویتامین‌هایی چون تیامین، ریبوفلاوین، نیاسین، پانتوتنیک اسید و پیریدوکسین و مواد معدنی شامل آهن، منگنز، مس، کلسیم، وانادیوم، آلومینیوم، سیلیکون، روی، سدیم، ید و منیزیم و نیز به مقادیر بسیار کم حاوی اسید آمینه‌هایی از قبیل آرژنین و پرولین است. سوکسینات دهیدروژناز، گلوکز ۶ فسفاتاز، آدنوزین‌تری فسفاتاز، اسید فسفاتاز و بتاآمیلاز نیز در محتویات پروپولیس ایرانی یافت شده است [۱۰]. گزارشی دال بر مقایسه پروپولیس ایرانی با انواع دیگر کشورها یافت نگردید، ولی در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۷ در دانشگاه علوم پزشکی تهران مشخص شد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروپولیس ایرانی از سه منطقه جغرافیایی تهران، اصفهان و خراسان به دلیل تفاوت در میزان ترکیبات پلی‌فنلی از جمله فلاونوئیدها با هم تفاوت دارند [۱۱].

وجود اثرات ضد التهابی ثابت شده و گزارشات ضد و نقیض منتشر شده در مورد اثرات ضد دردی عصاره پروپولیس [۲۳،۱۶،۱۵،۱۳،۱۲] که می‌تواند ناشی از تفاوت در میزان ترکیبات، رنگ و نوع عصاره‌گیری پروپولیس در نقاط مختلف دنیا باشد باعث شد تا این مطالعه با هدف بررسی اثرات ضد دردی عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی (تهیه شده در سمنان و اطراف آن) طراحی و انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش از نوع تجربی بوده و با مجوز کمیته اخلاق به شماره IR.SEMUMS.REC.1397.319 دانشگاه علوم پزشکی سمنان اجرا گردید.

حیوانات. در این مطالعه از ۱۹۲ سر موش سوری نر نژاد آلبینو albino در محدوده وزنی ۲۵ تا ۳۰ گرم مورد استفاده شد. حیوانات مورد آزمایش از مرکز تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان تهیه و به‌طور تصادفی در گروه‌های ۸ تایی قرار گرفتند. محل نگهداری حیوانات در یک اطاق کنترل شده از نظر حرارت و رطوبت با سیکل منظم ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت حدود ۲۲ درجه سانتی‌گراد بود. آب و غذا نیز به مقدار کافی در اختیار آن‌ها قرار داشت و برای سازگاری با محیط حداقل یک ساعت قبل از انجام آزمون‌ها به آزمایشگاه درد منتقل می‌شدند. با توجه به سیکل بیولوژیکی حیوانات زمان انجام آزمون‌ها از ساعت ۹ صبح تا ۲ بعداز ظهر بود.

روش تهیه عصاره هیدروالکلی (اتانولی) پروپولیس. پروپولیس مورد استفاده در این پژوهش از کندوهای زنبور عسل واقع در نواحی مختلف استان سمنان تهیه، به آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده پزشکی منتقل و تا زمان عصاره‌گیری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. عصاره اتانولی پروپولیس مطابق روش بوسیو و همکاران انجام شد. قطعات بزرگ به قطعات ریز خرد شده، تبدیل و ۲۵ گرم از آن با ۲۵۰ میلی‌لیتر محلول اتانل ۸۰ درصد مخلوط و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق با استفاده از دستگاه شیکر مسطح در سطح افق تکان داده شد (۱۵۰ دور در دقیقه). سپس عصاره هیدروالکلی حاصل توسط کاغذ صافی نمره ۴۲ واتمن دو بار صاف شده و به کمک دستگاه روتاری الکل آن تبخیر و عصاره خالص به دست آمد. در پایان عصاره خالص به‌دست آمده توزین و تا زمان استفاده در ظرف شیشه‌ای تیره‌رنگ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]
[DOI: 10.29252/koomesh.22.1.170]

نگهداری شد [۲۴]. ترکیبات نمونه پروپولیس مصرفی به‌وسیله آقای دکتر پورفرزام دانشکده داروسازی دانشگاه اصفهان توسط GC/MSمشخص و نشان داده شد که نمونه مورد استفاده دارای ترکیبات پلی‌فنیلیک مانند فلاونوئیدها می‌باشد که نقش مهمی در بروز اثرات ضد دردی پروپولیس دارند. دوز مورد استفاده ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش بود [۱۵،۱۲].

داروها. سولفات مرفین: از شرکت دارویی تماد ایران، ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش داخل صفاقی تزریق شد.

اسید استیک: از شرکت دارویی MercK آلمان، با غلظت (۱درصد) و با دوز ml/kg ۱ وزن بدن موش داخل صفاقی تزریق شد.

فرمالین: از شرکت دارویی MercK آلمان، با غلظت ۳درصد و با دوز ۲۵ میکرولیتر برای هر موش زیر جلدی تزریق شد.

گروه‌های آزمایشی:

برای انجام هر آزمون حیوانات در ۶ گروه ۸ تایی انتخاب و مورد استفاده قرار گرفتند.

گروه ۱ کنترل منفی: که هیچ ماده‌ای دریافت نکردند (N=۸).

گروه۲ کنترل مثبت: که سولفات مرفین ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش جهت بررسی درد حاد که ۳۰ دقیقه قبل از تست به صورت داخل صفاقی تزریق شد (N=۸).

گروه ۳ دریافت‌کننده وهیکل: که هم حجم عصاره وهیکل ۳۰ دقیقه قبل از تست به صورت داخل صفاقی دریافت کردند (N=۸).

گروه‌های ۴ و ۵ و ۶ دریافت‌کننده عصاره اتانولی پروپولیس ایرانی: با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش جهت بررسی درد حاد و مزمن و احشایی که ۳۰ دقیقه قبل از تست به صورت داخل صفاقی تزریق شد (N=۸) [۲۴،۲۵].

آزمون‌های انجام سنجش درد

آزمون Hot plate . یکی از مدل‌های ایجاد و بررسی درد حاد در حیوانات آزمایشگاهی است. در این تحقیق از دستگاه ساخت شرکت IITC Life Sciences، مدل ۳۹ ساخت کشور آمریکا موجود در مرکز تحقیقات فیزیولوژی استفاده شد. دستگاه مجهز به زمان‌سنج و ترموستات بوده و حرارت مورد نظر برای ایجاد درد در پاهای حیوان به‌وسیله مقاومت الکتریکی تولید می‌کند. در این تحقیق درجه حرارت دستگاه در محدوده ۵/۵±۵۲/۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. بلافاصله پس از قرار دادن حیوان بر روی صفحه داغ، زمان‌سنج را فعال و با اولین واکنش حیوان نسبت به درد ناشی از حرارت (لیسیدن پاهای جلویی، بالا بردن پاهای عقبی و یا اقدام به پرش) زمان‌سنج متوقف می‌شود. مدت زمان ثبت شده توسط دستگاه به‌عنوان Latency(زمان پاسخ به درد) در نظر گرفته می‌شود. Cutoff در این آزمون برای جلوگیری از سوختن و یا صدمه به پاهای حیوان، ۴۵ ثانیه در نظر گرفته شد [۲۵].

آزمون Tail Flick . این آزمون نیز یکی دیگر از روش‌های استاندارد سنجش درد حاد در حیوانات آزمایشگاهی است. در این تحقیق دستگاه موجود در آزمایشگاه درد مرکز تحقیقات فیزیولوژی که ساخت شرکت (Ugo Basile)، مدل ۳۷۳۶۰ از کشور ایتالیا بود مورد استفاده قرار گرفت. بعد از سازگاری حیوان با دستگاه، بدون ایجاد استرس و با استفاده از حوله، حیوان روی دستگاه طوری مقید می‌شد که دم آن به آزادی قابل حرکت بود و در مسیر تابش اشعه قرار می‌گرفت. اشعه از طریق منفذی به منطقه‌ای از دم که برای همه حیوانات مشخص شده بود به زیر دم حیوان تابانیده می‌شد. شدت تابش در این دستگاه بین ۰ تا ۹۹ متغیر و قابل کنترل می‌باشد. در این تحقیق شدت ۵۰ و برای جلوگیری از صدمه به بافت دم حیوان Cut off را ۱۳ ثانیه مورد نظر قرار گرفت [۲۶،۲۷]. پس از قرار گرفتن منطقه مورد نظر دم حیوان در مسیر تابش اشعه، با فشار یک تکمه اشعه تابیده و دستگاه زمان تابش را ثبت می‌کند. در اثر جابه‌جایی دم حیوان ناشی از سوزش، تابش اشعه خودکار قطع شده و این زمان که با حساسیت ۰/۱ ثانیه به ثبت می‌رسد، به‌عنوان زمان پاسخ به درد (Latency)در نظر گرفته شد [۲۸].

آزمون Writhing . برای ایجاد درد احشایی در حیوانات از اسید استیک با غلظت (درصد۱) و با دوز ml/kg ۱ به صورت داخل صفاقی استفاده می‌شود. تزریق اسید استیک منجر به ایجاد درد احشایی می‌شود. این درد واکنش‌های انقباضی و کشیدن اندام‌ها را به‌دنبال دارد. پس از تزریق اسید استیک به صورت داخل صفاقی بلافاصله حیوان در جایگاه مخصوص قرار می‌گیرد. زمان و تعداد واکنش‌های ایجاد شده ناشی از درد احشایی ثبت و با گروه کنترل مقایسه شد [۲۹].

آزمون Formalin . برای ارزیابی درد حاد و مزمن در حیوانات آزمایشگاهی از آزمون فرمالین استفاده می‌شود. در این آزمون حیوان در یک مکعبی از جنس پلکسی گلاس به ابعاد ۳۰ سانتی‌متر که بر روی چهارپایه آلومینیومی با صفحه شیشه‌ای است قرار داده می‌شود. در فاصله‌ای از شیشه و سطح افق، آینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه برای مشاهده بهتر حرکات حیوان نصب شده است. جهت ایجاد درد در حیوان، فرمالین با غلظت ۳درصد و با دوز ۲۵ میکرولیتر و با استفاده از سرنگ انسولین به صورت زیر جلدی به کف پای راست عقبی موش تزریق می‌شود. کل زمان برحسب ثانیه که برای لیسیدن و گاز گرفتن پای تزریق شده صرف می‌شود، در دوره‌های زمانی ۵ دقیقه اول برای درد حاد و

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

[DOI: 10.29252/koomesh.22.1.170]

۱۶ تا ۶۰ دقیقه بعد به‌عنوان شاخص درد مزمن، اندازه‌گیری می‌شود. بعد از ۵ دقیقه اول، در فاصله دقایق ۵ الی ۱۵، حیوان رفتار خاصی را از خود بروز نمی‌دهد. از دقیقه ۱۶ تا ۶۰، فاز دوم درد شروع می‌شود و حیوان دوباره به علت ایجاد درد به لیسیدن کف پای تزریق شده می‌پردازد که حدود ۴۵ دقیقه طول می‌کشد [۳۰].

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها. نتایج به‌دست آمده به صورت mean±SEM ارائه شدند. یافته‌ها در گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و تست تکمیلی توکی (Tukey) توسط نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

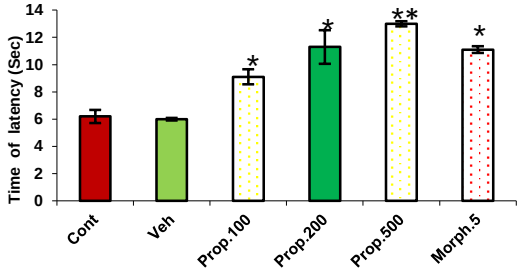
به‌وسیله GC/MS مشخص شد نمونه عصاره پروپولیس ایرانی مورد استفاده در این مطالعه علاوه بر اسیدهای کافیک و فرولیک و استرها و فنیل اتیل کافئات دارای در صد بالای فلاونوئیدها (پینوستروبین، پینوسمبرین، کریسین، و یک سری از پینوبانسکین‌ها) بود.

Hot Plate. داده‌های به‌دست آمده از این آزمون نشان داد که تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش بر درد حاد در مدل ارزیابی HP، ۳۰ دقیقه قبل از انجام آزمون باعث افزایش معنی‌داری در زمان تحمل به درد، در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل می‌شود (P =۰/۰۰۰۱ F(۴۲،۵)=۲۳۷/۲۴۲) (شکل ۱). دراین آزمون بهترین پاسخ در تزریق دوز ۵۰۰ میلیگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش دیده شد P<۰/۰۰۱.

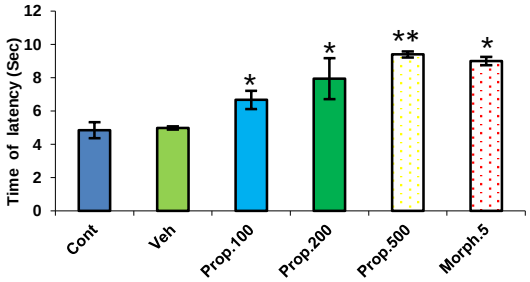
Tail Flick. ارزیابی داده‌ها در خصوص بررسی اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش بر درد حاد در مدل ارزیابی Tail Flick نشان داد که عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش، ۳۰ دقیقه قبل از انجام تست Tail Flick، در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل باعث افزایش معنی‌دار تحمل به درد شده است (P =۰/۰۰۰۱ F(۴۲،۵)=۳۷/۴۸۲) (شکل ۲). بهترین اثر با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش بود P<۰/۰۰۱.

Writhing. بررسی نتایج به‌دست آمده در این تحقیق نشان داد که تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش بر درد احشایی در مدل ارزیابی writhing، ۳۰ دقیقه قبل از انجام تست، در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل زمان (F(۴۲،۵)=۳۶/۹۶۴ P=۰/۰۰۰۱) (شکل ۳) و تعداد رایت‌های انجام شده (F(۴۲،۵)=۴۹/۴۴۷ P=۰/۰۰۰۱) (شکل ۴) توسط حیوان را کاهش می‌دهد که دال بر اثرات ضد دردی عصاره می‌باشد (P<۰/۰۵).

Formalin. نتایج به‌دست آمده در این آزمون دال بر اثرات ضد دردی تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش ۳۰ دقیقه قبل از تزریق فرمالین، بر درد حاد (F(۴۲،۵)=۱۷۷/۲۵۵ P=۰/۰۰۰۱) (شکل ۵) و درد مزمن (شکل ۶) (F(۴۲،۵)=۳۳۴/۰۹۶ P=۰/۰۰۰۱) در مدل ارزیابی فرمالین می‌باشد. در مقایسه با گروه کنترل زمان لیسیدن پایی را که فرمالین تزریق شده بود (ناشی از درد تزریق فرمالین)، به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (P<۰/۰۵).



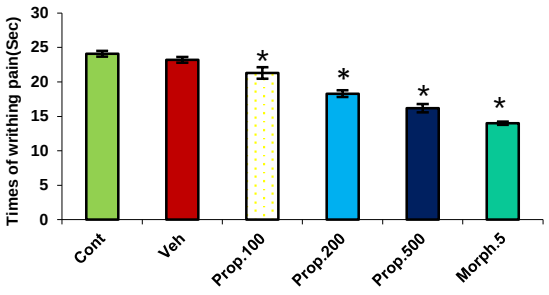
شکل ۱: اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش بر درد حاد در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل در مدل ارزیابی Hot Plate . * (P<0.05). در مقایسه با گروه‌های CONT و VEH و ** (P<0.01). بیشترین اثر در مقایسه با گروه‌های CONT و VEH
Cont= Control, Veh = Vehicle, Prop= propolis, Morph= Morphine sulfate



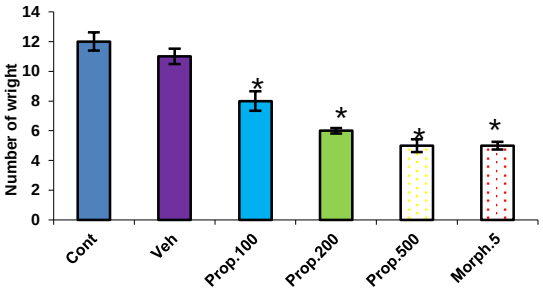
شکل ۲: اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بر درد حاد در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل در آزمون Tail Flick (P<0.05). * (P<0.05). در مقایسه با گروه های CONT و VEH ** (P<0.01). بیشترین اثر در مقایسه با گروه های CONT و VEH
Cont= Control, Veh = Vehicle, Prop= propolis, Morph= Morphine sulfate

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

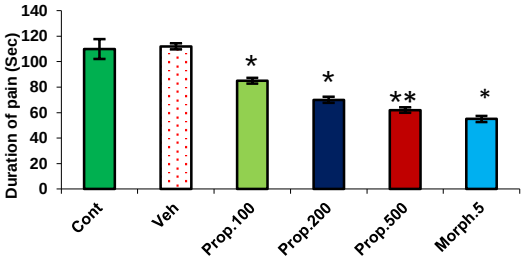
[DOI: 10.29252/koomesh.22.1.170]



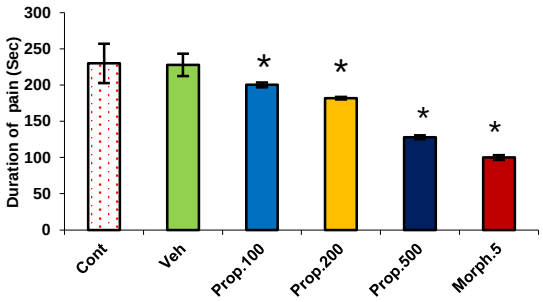
شکل ۳: اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی با دوزهای ۱۰۰ ، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل در آزمون بررسی درد احشایی ناشی از تزریق اسید استیک. بر کاهش زمان درد احشایی(زمان رایت ها) (P< 0.05). * (P<0.05). در مقایسه با گروه های CONT و VEH
** (P<0.01). بیشترین اثر در مقایسه با گروه های CONT و VEH
Cont= Control, Veh = Vehicle, Prop= propolis, Morph= Morphine sulfate



شکل۴: اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی با دوزهای ۱۰۰ ، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل در آزمون بررسی درد احشایی ناشی از تزریق اسید استیک بر کاهش تعداد رایت ها (P< 0.05). * (P<0.05). در مقایسه با گروه های CONT و VEH ** (P<0.01). بیشترین اثر در مقایسه با گروه های CONT و VEH
Cont= Control, Veh = Vehicle, Prop= propolis, Morph= Morphine sulfate



شکل۵: اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی با دوزهای ۱۰۰ ، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل در فاز حاد آزمون فرمالین (P<0.05).
* (P<0.05). در مقایسه با گروه های CONT و VEH
** (P<0.01). بیشترین اثر در مقایسه با گروه های CONT و VEH
Cont= Control, Veh = Vehicle, Prop= propolis, Morph= Morphine sulfate



شکل۶: اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی پروپولیس ایرانی با دوزهای ۱۰۰ ، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل در فاز مزمن آزمون فرمالین (P< 0.05).
* (P<0.05). در مقایسه با گروه های CONT و VEH
**(P<0.01). بیشترین اثر در مقایسه با گروه های CONT و VEH
Cont= Control, Veh = Vehicle, Prop= propolis, Morph= Morphine sulfate

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه ما نشان داد که استفاده داخل صفاقی عصاره اتانولی پروپولیس با هر سه دوز مصرفی در مدل‌های ارزیابی درد شیمیایی (Formalin و Writhing) و حرارتی (Tail flick، Hot plate) در حیوانات آزمایشگاهی اثرات ضد دردی واضحی دارد که بیش‌ترین اثر در بالاترین دوز عصاره بود. در مقایسه با اثرات ضد دردی قوی مرفین که به عنوان داروی رفرانس مورد استفاده قرار گرفت، عصاره اتانولی پروپولیس اثرات بسیار خوب ضد دردی از خود نشان داد. از سوی دیگر ۷۲ ساعت پس از دریافت داخل صفاقی عصاره اتانولی پروپولیس با دوزهای سه گانه (۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان) هیچ‌گونه علایم ناشی از مسمومیت (تغییر رنگ پوست، اختلال حرکتی و اسهال) یا مرگ و میری در حیوانات مشاهده نشد. به‌وسیله GC/MS مشخص شد نمونه عصاره پروپولیس ایرانی مورد استفاده در این مطالعه علاوه بر اسیدهای کافیک و فرولیک و استرها و فنیل اتیل کافئات دارای در صد بالای فلاونوئیدها (پینوستروبین، پینوسمبرین، کریسین، و یک سری از پینوبانسکین‌ها) بود.

HP نوعی آزمون حرارتی سنجش درد در حیوانات آزمایشگاهی است که بسیار شبیه درد بالینی است. این آزمون یک مدل طبیعی برای ارزیابی فعالیت دردهای حاد مرکزی بوده و روش ثابت شده‌ای برای انتخاب داروهای با اثر مرکزی می‌باشد [۳۱]. HP دو نوع پاسخ رفتاری لیسیدن پا و پریدن را دارد. هر دوی این‌ها به عنوان پاسخ‌های فوق نخاعی کامل مورد توجه هستند. نشان داده شده که مدل‌های تحریکات حرارتی نسبت به سایر مدل‌ها مانند رایتینگ ناشی از اسید استیک به مرفین کم‌تر حساس بوده و ثابت شده که هر عاملی بتواند زمان

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]
[DOI: 10.29252/koomesh.22.1.170]

تحمل به درد را در این آزمون افزایش دهد دارای اثرات مرکزی است [۳۲].

گزارش شده که اثرات ضد دردی بعضی از گیاهان مانند کاهو و بابونه ناشی از فلاونوئیدهای موجود در آن‌هاست که اثرات ضد دردی و ضد التهابی آن‌ها ثابت شده است [۳۳-۳۵]. با توجه به بروز اثرات ضد دردی پروپولیس در این مطالعه که تا حدود زیادی شبیه مرفین بود، می‌توان حدس زد که اثرات ضد دردی ترکیبات فعال در عصاره مانند فلاونوئیدها از طریق مکانیسم‌های مرکزی واسطه‌گری می‌شود.

نتیجه جالب این مطالعه این بود که عصاره یک اثر ضد دردی معنی‌داری در آزمون TF بروز داد. TF یک آزمون دارای پاسخ نخاعی مورد توجه است. نتایج مطالعات انجام شده دال بر این است که مکانیسم پاسخ ممکن است یک رفلکس نخاعی خالص نبوده و می‌تواند ساختمان‌های بالاتر از نخاع را نیز درگیر کند [۳۶]. احتمالاً مدار نخاعی- پیازی- نخاعی واسطه انجام آن می‌باشد [۳۷-۴۰]. بنابراین می‌توان حدس زد که بروز اثرات ضد دردی عصاره ناشی از تاثیر بر مراکز نخاعی و فوق نخاعی است. عقیده بر این است اثر اغلب مواد موثر در TF از طریق گیرنده‌های اوپیوئیدی مو می‌باشد [۴۱]. نتیجه مطالعه حاضر با نتیجه منتشر شده Kivanc و همکارانش در سال ۲۰۱۱ در ترکیه همسو بود [۱۳]، اما با نتایج مطالعات Rafael در برزیل [۲۱]، Niraldo و همکارانش در بلغارستان [۱۶]، Orley در برزیل [۱۵] متفاوت بود. به‌نظر می‌رسد این اختلاف در نتایج ناشی از نوع ترکیبات، و نوع عصاره پروپولیس مصرفی باشد.

آزمون رایتینگ برای ارزیابی فعالیت ضد دردهای محیطی ناشی از تزریق اسید استیک به‌دنبال التهاب مورد توجه است [۲۹]. اسید استیک باعث آزادی واسطه‌های درد درونی مانند برادی کینین، سروتونین، هیستامین، آمین‌های سمپاتومیمتیک و پروستاگلاندین‌ها می‌شود. این اثرات به آسانی به‌وسیله داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی به خوبی اوپیوئیدها و داروهای ضد درد مرکزی جلوگیری می‌شود [۴۲]. احساس درد ناشی از اسید استیک به‌وسیله ایجاد پاسخ‌های التهابی موضعی ناشی از آزاد شدن آراشیدونیک اسید آزاد از فسفولیپیدهای بافتی از طریق بیوسنتز سیکلو اکسیژناز و پروستاگلاندین می‌باشد. افزایش سطح پروستاگلاندین پریتوئن به‌وسیله افزایش نفوذپذیری کاپیلارها و ایجاد درد التهابی می‌شود. کاهش انقباضات ناشی از محدود کردن سنتز پروستاگلاندین می‌باشد [۴۳]. Riberio گزارش داد انقباضات شکمی ایجاد شده ناشی از اسید استیک وابسته به تولید و انتشار سیتوکین‌های مانع ایجاد التهاب، مانند فاکتور نکروز تومور، اینترلوکین ۱ و اینترلوکین ۸ از ماکروفاژها و ماست‌سل‌های موجود در صفاق می‌باشند [۴۴]. بنابراین با توجه به اثرات ضد دردی عصاره در تحقیق جاری ممکن است حداقل در قسمتی به علت کاهش آزادی TNF آلفا و دیگر سیتوکینین‌های سلول‌های موضعی، و همکاری با پروستاگلاندین‌ها باشد. بنابراین عصاره اثرات ضد دردی را احتمالاً با کاهش سنتز یا فعالیت پروستاگلاندین‌ها اعمال می‌کند. از عوامل ضد التهابی فعال پروپولیس، فلاونوئیدها هستند که اغلب در عصاره هیدروالکلی پروپولیس یافت می‌شوند. وجود فلاونوئیدها این ایده را که این ترکیب عصاره خاصیت ضد دردی دارد تایید می‌کند [۴۵-۴۸]. نتایج این مطالعه نشان داد پروپولیس ایرانی اثرات واضح ضد دردی هم از نظر تعداد و هم زمان انقباضات شکمی در مایس دارد که همسو با نظرات اعلام شده در برخی از تحقیقات منتشر شده می‌باشد [۲۱،۱۶،۳]. ترکیبات متعدد عصاره و تفاوت بین راه‌های تعدیل درد در موارد درد عضوی و احشایی ممکن است دلیل تناقضات منتشر شده در مطالعات مختلف باشد [۴۵].

آزمون فرمالین یک مدل جامع برای ارزیابی فعالیت ضد دردی داروها در حیوانات آزمایشگاهی می‌باشد. عقیده بر این است که اگر عصاره در کاهش درد هر دو فاز آزمون موثر باشد دارای قدرت ضد دردی بالایی است [۴۹]. این مدل اغلب برای ارزیابی تحریکات ادامه‌دار، درد مزمن و ضد دردهای متوسط مورد توجه قرار می‌گیرد که به سبب التهاب محیطی و احساس مرکزی ناشی از تزریق عوامل تحریک‌کننده در فضاهای زیرجلدی است و حیوان واکنش شدید لیسیدن پا را انجام می‌دهد. این آزمون اغلب شبیه به دردهای بالینی است [۵۱،۵۰،۳۰]. فاز اولیه آزمون که در ۵ دقیقه اول بعد از تزریق فرمالین شروع می‌شود (پاسخ درد نوروژنیک) نتیجه تحریک شیمیایی گیرنده‌های درد و تحریک مستقیم گیرنده‌های درد موجود در الیاف آوران C و قسمتی از فیبرهای A است که تعداد زیادی از واسطه‌های شیمیایی مانند آمینواسیدهای تحریک‌کننده التهاب، ماده P، پپتید وابسته به ژن کلسیتونین، پروستاگلاندین E2 و نیتریک اکساید NO که برای روند ایجاد درد لازم هستند آزاد می‌شوند. این فاز می‌تواند به‌وسیله داروهای ضد دردی اثرکننده مرکزی کاهش یابد. با کاهش درد در فاز اول می‌توان حدس زد که عصاره تزریقی در بروز اثرات ضد دردی خود با تولید یا آزاد شدن برخی نوروپپتیدها مانند نوروکینین یا گلوتامات تداخل دارد [۴۲]. فاز دوم درد (تاخیری) که بین دقایق ۱۵ تا ۳۰ بعد از تزریق فرمالین می‌باشد (پاسخ درد التهابی) ناشی از التهاب حاد ایجاد شده به‌وسیله فرمالین و در نتیجه صدمه سلولی است که منجر به تولید واسطه‌های درون‌زا شده [۵۲] و وابسته به آزاد شدن واسطه‌های شیمیایی مانند آدنوزین، برادی کینین، هیستامین، پروستاگلاندین و سروتونین می‌باشد که هر

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

[DOI: 10.29252/koomesh.22.1.170]

چند مکانیسم محیطی دارد ولی با واسطه‌های مرکزی واسطه‌گری می‌شود. به‌نظر می‌رسد فاز دوم به علت پاسخ التهابی باشد که قسمتی با پروستاگلاندین‌ها واسطه‌گری می‌شود و می‌تواند به‌وسیله داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی و استروئیدها به خوبی داروهای اثرکننده مرکزی سرکوب شود [۳۰]. مطالعات نشان داده‌اند که در روند التهاب، از نورون‌ها و یا بافت‌های صدمه‌دیده واسطه‌هایی تولید و یا آزاد می‌شوند که باعث پاسخ‌های متفاوتی مانند درد می‌شوند [۵۰]. لذا با توجه به نتایج مطالعه ما که دال بر این است که عصاره به صورت وابسته به دوز قدرت بالایی در تعدیل درد در هر دو فاز نوروژنیک و التهابی در آزمون فرمالین دارد، و از آن‌جایی که اثرات ضد دردی مرکزی و محیطی در آزمون فرمالین حداقل قسمتی به‌وسیله لیپواکسیژناز واسطه‌گری می‌شود لذا می‌توان نتیجه گرفت که اثرات ضد دردی واضح عصاره پروپولیس مورد استفاده در این تحقیق می‌تواند ناشی از اثر بر روی کاهش‌دهنده‌های سیکلو اکسیژناز باشد [۵۴،۵۳]. بنابراین می‌توان بیان کرد که هر دو اثر ضد دردی مرکزی و محیطی و مکانیسم اثر عصاره حداقل قسمتی وابسته به لیپواکسیژناز و یا سیکلو اکسیژناز در قالب اسید آراشیدونیک است که می‌تواند به‌وسیله مکانیسم‌های نوروژنیک و التهابی واسطه‌گری شود [۵۵]. از سوی دیگر بلوک‌کننده‌های کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ باعث ایجاد فاز اولیه و ثانویه درد در موش کوچک می‌شوند، لذا می‌توان گفت که اثرات ضد دردی مشاهده شده می‌توانند ناشی از درگیری عصاره در بلوک این کانال‌های کلسیمی نیز باشد. مطالعات نشان داده‌اند که تمیزکننده رادیکال‌های آزاد در روند التهاب که به‌وسیله نوتروفیل‌ها ایجاد می‌شوند مکانیزم اصلی اثر داروهای ضد التهاب روتین هستند که به نوعی اثرات ضد دردی عصاره پروپولیس را به این مکانیزم نیز نسبت داده‌اند [۵۶-۵۸].

نتایج ضد و نقیض منتشر شده اثرات ضد دردی عصاره پروپولیس در آزمون‌های مختلف بررسی درد و استفاده از بعضی از بلوکرهای گیرنده‌های درد که ناشی از تداخل بین ترکیبات متعدد موجود در عصاره و درگیری گیرنده‌های مختلف درد در اثرات ضد دردی و تفاوت بین راه‌های تعدیل درد در موارد درد عضوی و احشایی می‌باشد ممکن است دلیل بعضی از تناقضات بین مشاهدات باشد. از آن‌جایی‌که ترکیبات موجود در پروپولیس به عوامل مختلفی مانند منطقه جغرافیایی، گیاهان مورد استفاده و فصل تولید آن توسط زنبور عسل بستگی دارد لذا، برای تعیین نظر قطعی مکانیسم اثرات ضد دردی و نقش گیرنده‌های مختلف دخیل در تعدیل درد توسط عصاره پروپولیس در آزمون‌های مختلف سنجش درد در حیوانات آزمایشگاهی لازم است تحقیقات بیش‌تری انجام شوند.

تشکر و قدردانی

این مقاله بر اساس بخشی از نتایج طرح تحقیقاتی مصوب شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سمنان به شماره ۱۳۳۰ و پایان‌نامه خانم شیما شریفی دانشجوی پزشکی می‌باشد که در مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه انجام شده است. از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه جهت حمایت مالی از طرح و همکاران محترم مرکز تحقیقات فیزیولوژی بابت همکاری و تامین تسهیلات لازم برای انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

[1] Miranda A, Sood M. Treatment options for chronic abdominal pain in children and adolescents. Curr Treat Options Gastroenterol 2006; 9: 409-415.

[2] Milind P, Monu Y. Laboratory models for screening analgesics. Int Res J Pharm 2013; 4: 15-19.

[3] Cavendish RL, de Souza Santos J, Neto RB, Paixão AO, Oliveira JV, de Araujo ED, et al. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of Brazilian red propolis extract and formononetin in rodents. J Ethnopharmacol 2015; 173: 127-133.

[4] Katzung B. Opioid analgesics and antagonists. Basic and clinical pharmacology 9th ed New York: McGraw-Hill Book Co 2004; 497-516.

[5] Rowbotham M, Harden N, Stacey B, Bernstein P, Magnus-Miller L, Group GPNS. Gabapentin for the treatment of postherpetic neuralgia: a randomized controlled trial. JAMA 1998; 280: 1837-1842.

[6] Smiley MM, Lu Y, Vera-Portocarrero LP, Zidan A, Westlund KN. Intrathecal gabapentin enhances the analgesic effects of subtherapeutic dose morphine in a rat experimental pancreatitis model. Anesthesiology 2004; 101: 759.

[7] Matthews EA, Dickenson AH. A combination of gabapentin and morphine mediates enhanced inhibitory effects on dorsal horn neuronal responses in a rat model of neuropathy. Anesthesiology 2002; 96: 633-640.

[8] Portenoy RK, Foley KM, Inturrisi CE. The nature of opioid responsiveness and its implications for neuropathic pain: new hypotheses derived from studies of opioid infusions. Pain 1990; 43: 273-286.

[9] Lotfy M. Biological activity of bee propolis in health and disease. Asian Pac J Cancer Prev 2006; 7: 22-31.

[10] Zia M, Mannani R, Mahmoodi M, Bayat M, Mohaghegh F. The effects of alcoholic extract of propolis obtained from Iran bee hives on the growth of Trichophyton mentagrophytis, Trichophyton rubrum and Trichophyton verrucosum. J Isfahan Med School 2009; 27: 232-241. (Persian).

[11] Mohammadzadeh S, Sharriatpanahi M, Hamedi M, Amanzadeh Y, Ebrahimi SES, Ostad SN. Antioxidant power of Iranian propolis extract. Food Chem 2007; 103: 729-733.

[12] Paulino N, Dantas AP, Bankova V, Longhi DT, Scremin A, de Castro SL, Calixto JB. Bulgarian propolis induces analgesic and anti-inflammatory effects in mice and inhibits in vitro contraction of airway smooth muscle. J Pharmacol Sci 2003; 93: 307-313.

[13] Kamburoğlu K, Özen T. Analgesic effect of Anatolian propolis in mice. Agri 2011; 23: 47-50.

[14] Sforcin J. Propolis and the immune system: a review. J Ethnopharmacology 2007; 113: 1-14.

[15] Junior OD, Andreucci VC, da Silva Cunha IB, Araujo CEP, de Oliveira F, Marcucci MC. Investigation of the Anti-inflammatory and Analgesic Activities of a Sample of Brazilian Propolis. Acta Farm Bonaerense 2004; 23: 285-291.

[16] Paulino N, Teixeira C, Martins R, Scremin A, Dirsch VM, Vollmar AM, et al. Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of a Brazilian green propolis. Planta Medica 2006; 72: 899-906.

[17] Shimazawa M, Chikamatsu S, Morimoto N, Mishima S, Nagai H, Hara H. Neuroprotection by Brazilian green propolis

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

[DOI: 10.29252/koomesh.22.1.170]

against in vitro and in vivo ischemic neuronal damage. Evid Based Complement Alternat Med 2005; 2: 201-207.

[18] Boufadi Y, Soubhye J, Riazi A, Rousseau A, Vanhaeverbeek M, Nève J, et al. Characterization and antioxidant properties of six Algerian propolis extracts: ethyl acetate extracts inhibit myeloperoxidase activity. Int J Mol Sci 2014; 15: 2327-2345.

[19] Wu Z, Zhu A, Takayama F, Okada R, Liu Y, Harada Y, Wu S, Nakanishi H. Brazilian green propolis suppresses the hypoxia-induced neuroinflammatory responses by inhibiting NF-κB activation in microglia. Oxid Med Cell Longev 2013; 2013: 906726.

[20] El-Masry TA, Emara AM, El-Shitany NA. Possible protective effect of propolis against lead-induced neurotoxicity in animal model. J Evolution Biol Res 2011; 3: 4-11.

[21] de Campos RO, Paulino N, da Silva CH, Scremin A, Calixto JB. Natural products: anti-hyperalgesic effect of an ethanolic extract of propolis in mice and rats. J Pharm Pharmacol 1998; 50: 1187-1193.

[22] Askari VR, Rahimi VB, Zamani P, Fereydouni N, Rahmanian-Devin P, Sahebkar AH, Rakhshandeh H. Evaluation of the effects of Iranian propolis on the severity of post operational-induced peritoneal adhesion in rats. Biomed Pharmacother 2018; 99: 346-353.

[23] Gheibi N, Sofiabadi M, Safari T. Effects of propolis extract on pain induced by formalin in male mice. J Torbat Heydariyeh Univ Med Sci 2018; 5: 22-28. (Persian).

[24] Lahouel M, Boutabet K, Kebsa W, Alyane M. Polyphenolic fractions of Algerian propolis reverses doxorubicin induced acute renal oxidative stress. African J Pharmacy Pharmacol 2010; 4: 712-720.

[25] Woolfe G, MacDonald A. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol). J Pharmacol Exper Therap 1944; 80: 300-307.

[26] Taherian AA, Babae M, Vafaei AA, Jarrahi M, Jadidi M, Sadeghi H. Antinociceptive effects of hydroalcoholic extract of Thymus vulgaris. Pak J Pharm Sci 2009; 22: 83-89.

[27] Taherian AA, Vafaei AA, Ameri J. Opiate system mediate the antinociceptive effects of Coriandrum sativum in mice. Iran J Pharm Res 2012; 11: 679-688.

[28] D'Amour FE, Smith DL. A method for determining loss of pain sensation. J Pharmacol Exp Ther 1941; 72: 74-79.

[29] Ahmed F, Selim M, Das A, Choudhuri M. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of Lippia nodiflora Linn. Pharmazie 2004; 59: 329-330.

[30] 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: 161-174.

[31] Sabina E, Chandel S, Rasool MK. Evaluation of analgesic, antipyretic and ulcerogenic effect of Withaferin A. Int J Integr Biol 2009; 6: 52-56.

[32] Ibironke G, Ajiboye K. Studies on the anti-inflammatory and analgesic properties of Chenopodium ambrosioides leaf extract in rats. Int J Pharmacol 2007; 3: 111-115.

[33] Rao M, Rao Y, Rao A, Prabhkar M, Rao C, Muralidhar N. Antinociceptive and anti-inflammatory activity of a flavonoid isolated from Caralluma attenuate. J Ethnopharmacol 1998; 62: 63-66.

[34] Kim HP, Son KH, Chang HW, Kang SS. Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. J Pharmacol Sci 2004; 96: 229-245.

[35] Küpeli E, Yesilada E. Flavonoids with anti-inflammatory and antinociceptive activity from Cistus laurifolius L. leaves through bioassay-guided procedures. J Ethnopharmacol 2007; 112: 524-530.

[36] Jensen TS, Yaksh TL. II. Examination of spinal monoamine receptors through which brainstem opiate-sensitive systems act in the rat. Brain Res 1986; 363: 114-127.

[37] King TE, Joynes RL, Grau JW. Tail-flick test: II. The role of supraspinal systems and avoidance learning. Behav Neurosci 1997; 111: 754-767.

[38] Irwin S, Bennett DR, Hendershot LC, Seevers M, Houde RW. The effects of morphine, methadone and meperidine on some reflex responses of spinal animals to nociceptive stimulation. J Pharmacol Exp Ther 1951; 101: 132-143.

[39] Bonnyeastle DD, Cook L, Ipsen J. The action of some analgesic drugs in intact and chronic spinal rats. Acta Pharmacol Toxicol (Copenh) 1953; 9: 332-336.

[40] Sinclair JG, Main CD, Lo GF. Spinal vs. supraspinal actions of morphine on the rat tail-flick reflex. Pain 1988; 33: 357-362.

[41] Shekhawat N, Vijayvergia R. Investigation of anti-inflammatory, analgesic and antipyretic properties of Madhuca indica GMEL. Eur J Inflammat 2010; 8: 165-171.

[42] Manjavachi MN, Quintão NL, Campos MM, Deschamps IK, Yunes RA, Nunes RJ, et al. The effects of the selective and non-peptide CXCR2 receptor antagonist SB225002 on acute and long-lasting models of nociception in mice. Eur J Pain 2010; 14: 23-31.

[43] Duarte I, Nakamura M, Ferreira S. Participation of the sympathetic system in acetic acid-induced writhing in mice. Braz J Med Biol Res 1988; 21: 341-343.

[44] Ribeiro RA, Vale ML, Thomazzi SM, Paschoalato AB, Poole S, Ferreira SH, Cunha FQ. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. Eur J Pharmacol 2000; 387: 111-118.

[45] Vidyalakshmi K, Kamalakannan P, Viswanathan S, Ramaswamy S. Antinociceptive effect of certain dihydroxy flavones in mice. Pharmacol Biochem Behav 2010; 96: 1-6.

[46] Thirugnanasambantham P, Viswanathan S, Mythirayee C, Krishnamurty V, Ramachandran S, Kameswaran L. Analgesic activity of certain flavone derivatives: a structure-activity study. J Ethnopharmacol 1990; 28: 207-214.

[47] Thirugnanasambantham P, Viswanathan S, Ramaswamy S, Krishnamurty V, Mythirayee C, Kameswaran L. Analgesic activity of certain flavone derivatives: a structure-activity study. Clin Exp Pharmacol Physiol 1993; 20: 59-63.

[48] Umamaheswari S, Viswanathan S, Sathiyasekaran B, Parvathavarthini S, Ramaswamy S. Antinociceptive activity of certain dihydroxy flavones. Indian J Pharmace Sci 2006; 68: 749.

[49] Jürgensen S, DalBó S, Angers P, Santos ARS, Ribeiro-do-Valle RM. Involvement of 5-HT2 receptors in the antinociceptive effect of Uncaria tomentosa. Pharmacol Biochem Behav 2005; 81: 466-477.

[50] Elisabetsky E, Amador TA, Albuquerque RR, Nunes DS, do CT Carvalho A. Analgesic activity of Psychotria colorata (Willd. ex R. & S.) Muell. Arg. alkaloids. J Ethnopharmacol 1995; 48: 77-83.

[51] Wheeler-Aceto H, Cowan A. Neurogenic and tissue-mediated components of formalin-induced edema: evidence for supraspinal regulation. Agents Actions 1991; 34: 264-269.

[52] Chen YF, Tsai HY, Wu TS. Anti-inflammatory and analgesic activities from roots of Angelica pubescens. Planta Medica 1995; 61: 2-8.

[53] Hunskaar S, Fasmer OB, Hole K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. J Neurosci Methods 1985; 14: 69-76.

[54] Abbott F, Franklin K. Noncompetitive antagonism of morphine analgesia by diazepam in the formalin test. Pharmacol Biochem Behav 1986; 24: 319-321.

[55] Ullah HA, Zaman S, Juhara F, Akter L, Tareq SM, Masum EH, Bhattacharjee R. Evaluation of antinociceptive, in-vivo & in-vitro anti-inflammatory activity of ethanolic extract of Curcuma zedoaria rhizome. BMC Complement Altern Med 2014; 14: 346.

[56] Pascual C, Gonzalez R, Torricella R. Scavenging action of propolis extract against oxygen radicals. J Ethnopharmacol 1994; 41: 9-13.

[57] Moreno MaIN, Isla MaI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. J Ethnopharmacol 2000; 71: 109-114.

[58] Ichikawa H, Satoh K, Tobe T, Yasuda I, Ushio F, Matsumoto K, et al. Free radical scavenging activity of propolis. Redox Report 2002; 7: 347-350.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

[DOI: 10.29252/koomesh.22.1.170]

Volume 22, Issue 1 (Winter 2020), 170 – 177

Effects of hydroalchoholic extract of Iranian *Propolis* on acute, chronic and visceral pain in mice

Abbas Ali Taherian (M.D)[*1], Hamid Reza Sameni (Ph.D)[2], Shima Sharifi (M.D Student) [3], Mohammad Mahdi Taherian (M.D Student)[3], Mohammad Hossein Taherian (M.D Student)[3]

1 - Research Center of Physiology, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

2 - Nervous System Stem Cells Research Center, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

3- Student Research Committe, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

* Corresponding author. +98 23- 33454360 taherian 99@Yahoo.com eceived: 22 Oct 2018; Accepted: 30 Jul 2019

Introduction*: Propolis* is a natural bee product, which has been used in folk medicine for the management of different diseases. Regarding to anti-inflammatory effects of *Propolis*, in this study we evaluated the analgesic effects of hydroalchoholic extract of Iranian *Propolis* on acute and chronic pain.

Materials and Methods*:* 192 young adult male albino mice (25-30 g) in 24 groups (n = 8) were used. *Propolis* (100, 200, and 500 mg/kg), vehicle and morphine as Positive control drug (5mg/Kg) were injected intera- peritoneally 30 min before the pain evaluation tests. Acute and chronic pain was assessed by by using hot plate (HP), tail flick (TF), formalin (FT) and writhing (WR) tests.

Results: Comapred to the control group, *Propolis* extract in all doeses increased pain tolerance in both the HP and TF ($P<0.01$). In the FT, *Propolis* extract decreased the reaction time in neurogenic and inflammatory phases than the control group ($P<0.01$). Pretreatment with the *Propolis* extract reduced the number and time of of abdominal writhes in the WR than the control group ($P<0.01$).

Conclusion: The above findings showed that Iranian *Propolis* have anti-analgesic effects in both acute and chronic models of pain.

Keywords*:* Propolis, Acute Pain, Visceral Pain, Chronic Pain, Mice.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

[DOI: 10.29252/koomesh.22.1.170]