فصلنامه

شناخت و کاربرد گیاهان دارویی

سال اول، شماره ۱، تابستان ۱۳۸۷، صفحات ۲۴- ۱۷

بررسی اثر ضددردی عصاره الکلی برگ گیاه اوکالیپتوس (*Eucalyptus globulus* Labill.) در موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ

اکرم عیدی*

دانشیار فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

عبدالحسین روستائیان

استاد فیتوشیمی، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

سمیه شبانی

کارشناسی‌ارشد فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

محل انجام پژوهش: مجتمع آزمایشگاهی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۱/۱۱ **تاریخ پذیرش:** ۸۸/۳/۷

چکیده

در طب سنتی، برگ‌های گیاه اوکالیپتوس (*Eucalyptus globulus* Labill.) دارای فعالیت زیستی قابل‌توجهی از جمله ضدباکتری، ضدویروس و آنتی‌اکسیدان است. در مطالعه حاضر، اثرات ضددردی عصاره الکلی برگ گیاه اوکالیپتوس، در موش نر بالغ نژاد NMRI مطالعه شد. فعالیت‌های ضددردی، با استفاده از آزمون‌های فرمالین، صفحه داغ و انقباضات شکمی مورد بررسی قرار گرفت. عصاره اتانولی (۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به صورت درون صفاقی تزریق گردید. گروه کنترل سرم فیزیولوژیک را به عنوان حلال عصاره دریافت نمود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عصاره اتانولی گیاه، فاز ثانویه درد را در آزمون فرمالین به صورت معنی‌داری کاهش می‌دهد. عصاره اتانولی گیاه در آزمون صفحه داغ، آستانه درد را در مدت ۶۰ دقیقه افزایش نداده است. عصاره اتانولی گیاه، فعالیت ضددردی در مقابل القای انقباضات شکمی توسط تزریق اسید استیک را نشان داد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که گیاه اوکالیپتوس دارای اثرات ضددردی در موش است و این گیاه می‌تواند در تحقیقات درمانی آینده مورد بررسی قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: اوکالیپتوس، درد، موش

* **مسؤول مکاتبات:** دکتر اکرم عیدی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، پست الکترونیکی: akram_eidi@yahoo.com

مقدمه

درد، تجربه حسی ناخوشایندی است که با آسیب‌های بافتی بالقوه و یا واقعی در ارتباط است (۱). درد، موجب آگاهی موجود زنده از خطر، وجود عامل یا محرک دردناک شده و منجر به حفظ هومئوستازی می‌شود و شخص را وادار به واکنش به منظور حذف محرک دردزا می‌نماید (۲). اساس مولکولی تنظیم درد، بسیار پیچیده است، ولی شناخت مکانیسم‌های مولکولی عامل درد در سیستم عصبی محیطی و مرکزی، به کشف داروهای موثر بر کاهش درد کمک می‌نماید (۳).

مرفین قرن‌ها به عنوان مهم‌ترین داروی ضددرد مورد استفاده قرار گرفته است، ولی به دلیل عوارض جانبی، تمایل کمتری به استفاده از آن دیده می‌شود. استفاده از گیاهان دارویی در تسکین درد از زمان‌های قدیم متداول بوده و استفاده از آن‌ها به دلیل تهیه آسان و ارزان بودن، افزایش پیش‌رونده نشان داده است. گیاهان دارویی با عوارض جانبی کمتر، جانشین مناسبی برای داروهای شیمیایی در نظر گرفته شده‌اند که به صورت وسیعی در نواحی مختلف جهان به کار برده می‌شوند (۴).

جنس اوکالیپتوس از تیره مورد (Myrtaceae) دارای حدود ۶۰۰ گونه است. گیاه اوکالیپتوس (*Eucalyptus globulus* Labill.) درختی بزرگ با تنه‌ای صاف، برگ‌هایی متقابل، بدون دمبرگ با طول حدود ۱۰ تا ۱۵ سانتی‌متر و عرض ۴ تا ۸ سانتی‌متر است. گل‌ها دارای تعداد بسیار زیادی پرچم، فاقد گلبرگ بوده با کاسه استکانی و دارای چهار رگه ضخیم، که توسط غشایی در برگرفته شده، میوه کپسول، چرمی، مشخص و دارای تعداد بسیار زیادی دانه است (۵). زمان گل‌دهی اوکالیپتوس از خرداد تا آبان است. گیاه در نواحی نسبتا گرم شمال ایران مانند بهشهر، بابلسر، نوشهر و لاهیجان بخوبی رشد می‌کند و با آبیاری در نواحی جنوب نیز قابل کشت است (۶).

گیاه اوکالیپتوس دارای خواص ضدباکتری، ضدقارچی، ضد سرطانی (۷)، تحریک زنش مژه‌های بینی (۸)، کاهش ماده بزاقی در برونشیت مزمن (۹)، ضد التهابی (۱۰)، کاهش قند خون (۱۱) و از بین برنده ویروس‌های تنفسی (۱۲) است.

در تحقیق حاضر جهت مشخص نمودن اثر ضددردی برگ گیاه اوکالیپتوس، عصاره اتانولی برگ گیاه به موش‌های کوچک آزمایشگاهی تیمار گردید و میزان پاسخ به درد با استفاده از آزمون‌های فرمالین، اسید استیک و صفحه داغ مورد ارزیابی قرار گرفت و همچنین مقایسه‌ای بین اثر ضددردی گیاه و داروی متداول ضددرد، مرفین به عمل آمد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و شناسایی گیاه

برگ گیاه اوکالیپتوس در خرداد ماه سال ۱۳۸۶ از استان ایلام جمع‌آوری گردید و پس از شناسایی از نظر تاکسونومیک، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در سایه، خشک و توسط آسیاب مکانیکی جهت تهیه عصاره گیاه به پودر تبدیل گردید. پودر خشک در کیسه‌های نایلونی تا زمان آزمایش در جای خنک نگهداری شد.

آماده‌سازی عصاره

پودر حاصل از برگ گیاه با اتانول ۸۰ درصد مخلوط شد و سپس در دستگاه سوکسله (Suxhlet) قرار داده شد. عصاره اتانولی حاصله توسط دستگاه روتاری (Rotary) خشک گردید.

حیوانات آزمایشگاهی

موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر بالغ (نژاد NMRI) با محدوده وزنی ۲۵ تا ۳۰ گرم از انستیتو پاستور ایران، خریداری و در شرایط آزمایشگاهی با درجه حرارت ۲ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و نیز رطوبت نسبی ۴۰ تا ۶۰ درصد نگهداری شدند. حیوانات در گروه‌های ۶ تایی در قفس‌های پلکسی‌گلاس نگهداری شدند و به استثنای زمان

آزمایش، به آب و غذا دسترسی داشتند. هر حیوان فقط یک‌بار مورد آزمایش قرار گرفت.

گروه‌های تجربی

عصاره گیاهی در دوزهای مختلف، داروی مرفین و سرم فیزیولوژیک به صورت تزریق درون صفاقی تیمار گردید. حجم ماده تیمار شده در تمامی گروه‌ها ۰/۲ میلی‌لیتر بود. تمامی تجربیات رفتاری در محدوده زمانی ۱۳-۸ انجام گرفت. حیوانات به ۷ گروه تقسیم شدند. هر حیوان فقط یک بار مورد آزمایش قرار گرفت. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ سر بود.

گروه ۱: حیوانات کنترل که تیماری دریافت ننمودند.

گروه ۲: حیوانات شاهد که سرم فیزیولوژیک دریافت نمودند.

گروه ۳: حیواناتی که عصاره گیاهی را در دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.

گروه ۴: حیواناتی که عصاره گیاهی را در دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.

گروه ۵: حیواناتی که عصاره گیاهی را در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.

گروه ۶: حیواناتی که عصاره گیاهی را در دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.

گروه ۷: حیواناتی که مرفین را در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.

آزمایش فرمالین

فعالیت ضددردی حیوانات با استفاده از آزمایش فرمالین مورد ارزیابی قرار گرفت. یک ساعت قبل از ازمایش، حیوانات در قفس استاندارد ۱۳×۱۲×۳۰ سانتی‌متر قرار داده شدند که به عنوان قفس مشاهده در نظر گرفته شد. ۵۰ میکرولیتر از فرمالین ۲/۵ درصد به سطح پشتی پنجه پای راست حیوان تزریق گردید. حیوانات به مدت ۶۰ دقیقه بعد از تزریق فرمالین مشاهده شدند و میزان پاسخ حیوان به درد در پای تزریق شده ثبت گردید. امتیاز پاسخ به درد در مرحله اول ۵-۰ دقیقه و در مرحله دوم ۴۵-۱۵ دقیقه پس از تزریق فرمالین در نظر گرفته شد. داروها ۳۰ دقیقه قبل از تزریق فرمالین تیمار گردیدند (۱۳).

نحوه نمره‌گذاری

اساس نمره‌گذاری به شرح زیر است :

امتیاز صفر: هر دو پنجه روی کف جایگاه قرار گرفته‌اند، وزن حیوان بطور مساوی روی آن‌ها قرار دارد. حین حرکت نیز ترجیح اختیاری جهت استفاده از پنجه مقابل وجود ندارد.

امتیاز یک: پای تزریق شده به آرامی روی کف یا بخشی از بدن حیوان قرار گرفته و فشار کمی روی آن اعمال می‌شود. حین حرکت لنگش واضحی دیده می‌شود.

امتیاز دو: پای تزریق شده کاملاً از کف جعبه برداشته شده و هیچ تماسی با سطح ندارد. پای مقابل محکم روی سطح قرار گرفته است.

امتیاز سه: حیوان پای تزریق شده را می‌لیسد، گاز می گیرد یا به شدت می‌لرزاند. این حرکت به طور مشخصی با حرکات حیوان جهت تمیز کردن خودش متفاوت است، گرچه تبدیل شدن یکی به دیگری، ممکن است دیده شود.

آزمایش انقباضات شکمی (Writhing test)

در روز آزمایش به منظور عادت کردن حیوانات به محیط، هریک از آن‌ها ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش در جعبه استاندارد شیشه‌ای مذکور قرار داده شدند. ابتدا سرم فیزیولوژیک، عصاره اتانولی برگ گیاه اوکالیپتوس حل شده در سرم فیزیولوژیک استریل با دوزهای مختلف ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به میزان ۰/۲ میلی‌لیتر به صورت درون صفاقی تزریق گردید. پس از گذشت ۱۵ دقیقه، اسید استیک به حجم ۰/۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن با غلظت ۱ درصد تزریق شد و ۵ دقیقه پس از تزریق درون صفاقی اسیداستیک، تعداد

انقباضات شکمی (به گونه‌ای که هر دو پای موش کاملا کشیده گردد) شمارش شد. در ضمن هر حیوان فقط یک‌بار استفاده گردید (۱۴).

نحوه ایجاد درد با استفاده از آزمایش صفحه داغ (Hot plate test)

سرم فیزیولوژیک، عصاره اتانولی برگ گیاه اوکالیپتوس حل شده در سرم فیزیولوژیک استریل با دوزهای مختلف ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به میزان ۰/۲ میلی‌لیتر به صورت درون صفاقی تزریق گردید. موش‌ها در زمان‌های قبل از تزریق (دقیقه صفر) و نیز در دقایق ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰ بر روی صفحه داغ با دمای ۵۶ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و زمان عکس‌العمل روی صفحه داغ اندازه‌گیری شد. عکس‌العمل حیوان شامل پریدن یا لیسیدن یکی از پنجه‌های عقب یا جلو است. برای جلوگیری از آسیب بافتی، اگر حیوانات بعد از ۲۰ ثانیه هیچ گونه واکنشی نداشتند از روی صفحه برداشته شدند. در ضمن هر حیوان فقط یک‌بار استفاده گردید (۱۵).

تعیین LD_{50}

به منظور تعیین دوز کشنده، تعداد ۱۰ حیوان در هر گروه انتخاب گردید و عصاره اتانولی برگ گیاه اوکالیپتوس در دوزهای ۱۰۰۰ ، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰، ۴۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی تیمار گردید. میزان مرگ و میر حیوانات تا ۷۲ ساعت بعد از تزریق، شمارش و LD50 عصاره گیاه تعیین گردید (۱۶).

آنالیز آماری داده‌ها

تمامی داده‌ها از نظر آماری با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One – way ANOVA) و آزمون Tukey بررسی گردیدند. نتایج به صورت Mean±S.E.M. ارائه گردید. ملاک استنتاج آماری $p< ۰/۰۵$ درنظر گرفته شد.

نتایج

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که دوز ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، LD50 عصاره اتانولی برگ اوکالیپتوس است (جدول ۱).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تزریق عصاره اتانولی برگ گیاه اوکالیپتوس در دوزهای ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، موجب کاهش معنی‌داری در پاسخ‌های ظاهر شده در فاز اولیه درد القا شده توسط آزمایش فرمالین در موش نر بالغ نمی‌شود. مرفین در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش درد می‌گردد (نمودار ۱).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تزریق درون صفاقی مرفین در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و عصاره اتانولی برگ گیاه اوکالیپتوس در دوزهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، موجب کاهش معنی‌داری در پاسخ‌های ظاهر شده در فاز ثانویه درد القا شده توسط آزمایش فرمالین در موش نر بالغ می‌شود (نمودار ۲).

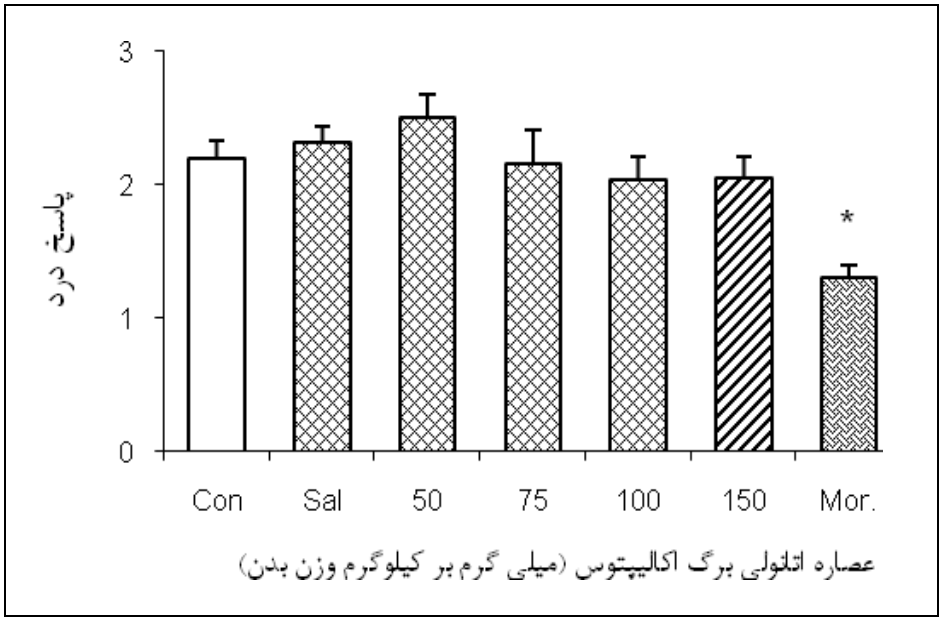
نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تزریق درون صفاقی عصاره اتانولی گیاه اوکالیپتوس در دوزهای ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، موجب کاهش درد القا شده توسط اسید استیک در موش نر بالغ می‌شود. مرفین در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نیز موجب کاهش درد می‌گردد (نمودار ۳).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تزریق درون صفاقی عصاره اتانولی گیاه اوکالیپتوس در دوزهای ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، موجب کاهش درد القا شده توسط آزمایش صفحه داغ در موش نر بالغ نمی‌شود. مرفین در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش درد القا شده توسط آزمایش صفحه داغ در موش نر بالغ می‌گردد (نمودار ۴).

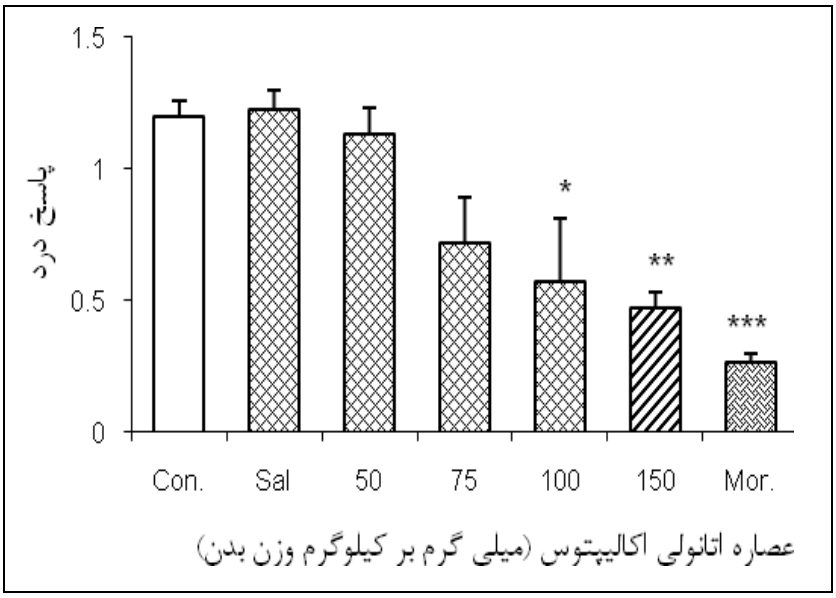
جدول ۱- اثر تزریق درون صفاقی عصاره الکلی برگ گیاه اوکالیپتوس به منظور تعیین LD_{50}

وضعیت حیوان در واحد زمان / دوز (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)	تعداد حیوانات کشته شده در ساعت‌های مختلف پس از تزریق								باقی‌مانده
	۰/۵	۱	۴	۸	۱۲	۲۴	۴۸	۷۲	
۱۰۰۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰
۲۰۰۰	۰	۰	۰	۰	۱	۰	۲	۰	۷
۳۰۰۰	۰	۰	۲	۰	۲	۰	۱	۰	۵
۴۰۰۰	۲	۰	۱	۲	۱	۱	۰	۰	۳

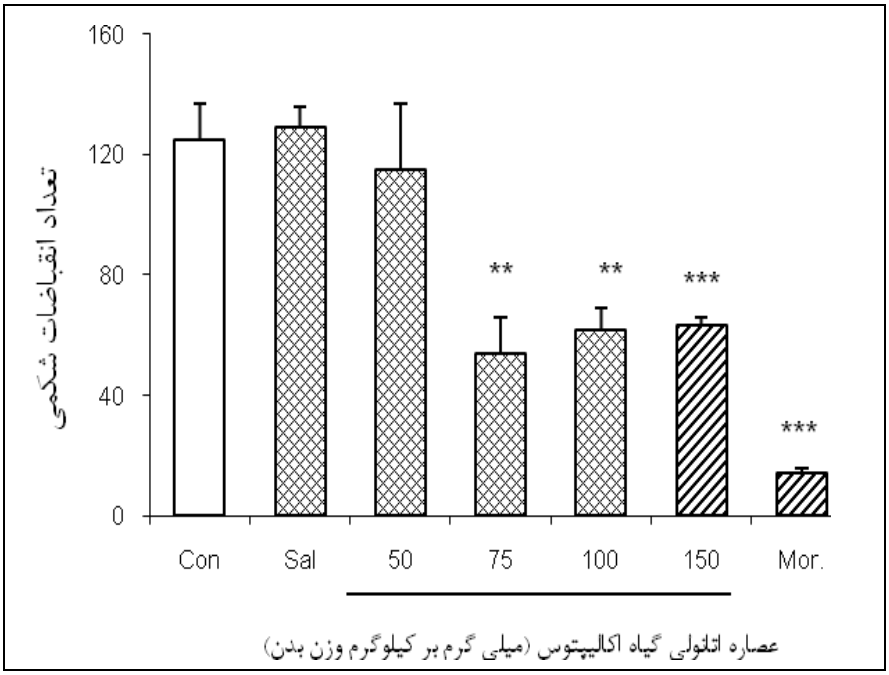
تعداد حیوانات در هر گروه = ۱۰ سر



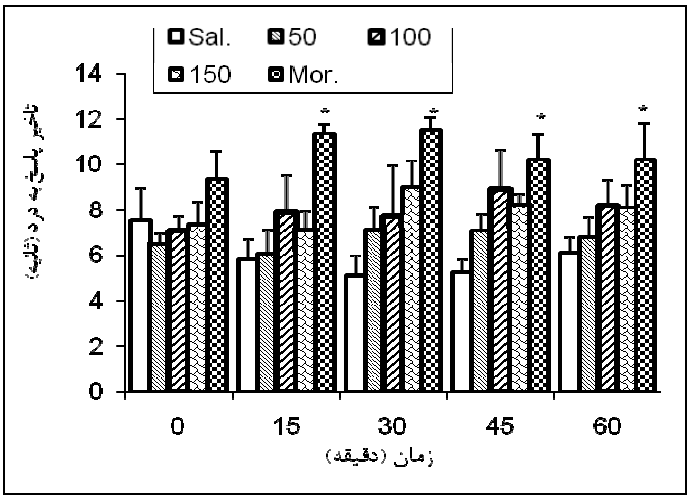
نمودار ۱- اثر تزریق درون صفاقی عصاره اتانولی برگ گیاه اوکالیپتوس در دوزهای ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و مرفین در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر فاز اولیه درد القا شده توسط آزمایش فرمالین در موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ. حجم تزریق ۰/۲ میلی‌لیتر است. عصاره به صورت تزریق درون صفاقی ۱۵ دقیقه قبل از تزریق فرمالین تیمار گردید. امتیاز دهی بلافاصله پس از تزریق فرمالین در مدت ۵ دقیقه انجام گردید. حیوانات گروه شاهد سرم فیزیولوژیک (Sal.) دریافت نمودند. نتایج به صورت Mean±S.E.M. ارائه گردیده است (n=۶). * $p < ۰/۰۵$ اختلاف از گروه شاهد را نشان می‌دهد.



نمودار ۲- اثر تزریق درون صفاقی عصاره اتانولی برگ گیاه اوکالیپتوس در دوزهای ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و مرفین در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر فاز ثانویه درد القا شده توسط آزمایش فرمالین در موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ. حجم تزریق ۰/۲ میلی‌لیتر است. عصاره به صورت تزریق درون صفاقی ۱۵ دقیقه قبل از تزریق فرمالین تیمار گردید. امتیازدهی ۱۵ دقیقه پس از تزریق فرمالین به مدت ۳۰ دقیقه انجام گردید. حیوانات گروه شاهد سرم فیزیولوژیک (Sal.) دریافت نمودند. نتایج به صورت Mean±S.E.M. ارائه گردیده است (n=۶). * $p < ۰/۰۵$ ، ** $p < ۰/۰۱$ ، *** $p < ۰/۰۰۱$ اختلاف از گروه شاهد را نشان می‌دهد.



نمودار ۳- اثر تزریق درون صفاقی عصاره اتانولی برگ گیاه اوکالیپتوس در دوزهای ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و مرفین (Mor.) در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر درد القا شده توسط اسید استیک ۱۵دقیقه پس ازتیمار در موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ. تعداد انقباضات شکمی ۵ دقیقه پس از تیمار اسید استیک به مدت ۳۰ دقیقه شمارش گردید. حیوانات گروه شاهد سرم فیزیولوژیک (Sal.) دریافت نمودند. نتایج به صورت Mean±S.E.M ارائه گردیده است (n=۶). ** $p< ۰/۰۱$ ، *** $p< ۰/۰۰۱$ اختلاف از گروه شاهد را نشان می‌دهد.



نمودار ۴- اثر تزریق درون صفاقی عصاره اتانولی برگ گیاه اوکالیپتوس در دوزهای ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و مرفین (Mor.) در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر درد القا شده توسط صفحه داغ در زمان‌های صفر، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰ دقیقه پس ازتیمار در موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ. حیوانات گروه شاهد سرم فیزیولوژیک (Sal.) دریافت نمودند. نتایج به صورت Mean±S.E.M. ارائه گردیده است (n=۶). * $p < ۰/۰۵$ اختلاف از گروه شاهد را نشان می‌دهد.

بحث

در تحقیق حاضر، اثرات ضددردی عصاره اتانولی برگ گیاه اوکالیپتوس توسط سه آزمون فرمالین، اسید استیک و صفحه داغ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که عصاره گیاه به صورت معنی‌داری درد القا شده توسط فاز ثانویه آزمون فرمالین را کاهش می‌دهد در حالی که بر درد القا شده توسط فاز اولیه تاثیری ندارد. عصاره گیاه به صورت معنی‌داری، پاسخ درد القا شده توسط تیمار اسید استیک را مهار می‌کند. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عصاره گیاه به صورت معنی‌داری، مدت زمان تاخیر در پاسخ به درد القا شده توسط آزمون صفحه داغ را افزایش نمی‌دهد. بنابراین، عصاره گیاه اوکالیپتوس دارای اثرات ضددردی بر درد مزمن و نه درد حاد است.

آزمون فرمالین، تفکیک‌کننده بین درد حاد و مزمن است (۱۷،۱۸). آزمون فرمالین، مدل ایجاد درد بر اساس سنجش رفتارهای القا شده به وسیله تزریق زیر جلدی محلول فرمالین به سطح پشتی پای جانور است. مهم‌ترین ویژگی آزمون فرمالین این است که دو نوع پاسخ به درد را نشان می‌دهد که ظاهرا از طریق دو مکانیسم مختلف عمل می‌کند. فاز اول یا فاز نوروژنیک، بلافاصله بعد از تزریق فرمالین ظاهر می‌شود و به مدت ۵ دقیقه طول می‌کشد. در این فاز، نورون‌های نوسی سپتور از طریق اثر مستقیم فرمالین فعال می‌شوند. در فاصله ۱۵ -۵ دقیقه بعد از تزریق فرمالین، حیوان رفتار خاصی از خود نشان نمی‌دهد. بعد از ۱۵ دقیقه، فاز دوم درد شروع شده و حیوان دوباره به لیسیدن پای مربوطه ادامه می‌دهد که حدودا ۳۰ دقیقه طول می‌کشد و به آن فاز التهابی می‌گویند. در این فاز، نورون‌های شاخ شکمی طناب نخاعی فعال می‌شوند (۱۹). داروهای ضد التهابی - ضد استروئیدی دردهای حاصل از فاز دوم را مهار می‌کنند (۲۰). فاز ثانویه همراه با پاسخ‌های التهابی است و توسط میانجی‌گرهای التهابی همانند سروتونین، هیستامین، برادی‌کینین و پروستاگلاندین ایجاد می‌شود و به وسیله داروهای ضدالتهابی مهار می‌شود (۲۱).

در تحقیق حاضر، اثر عصاره اتانولی گیاه اوکالیپتوس بر درد ایجاد شده توسط فرمالین مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج نشان داد که عصاره گیاه به طور محسوس درد مزمن را کاهش می‌دهد، در حالی که بر درد حاد اثری ندارد. بنابراین، عصاره اتانولی برگ گیاه اوکالیپتوس باعث کاهش معنی‌داری در میزان درد مزمن القا شده توسط آزمایش فرمالین می‌گردد.

آزمون انقباضات شکمی القا شده با اسید استیک، معتبر، قابل اجرا و آسان است و قابلیت ایجاد سریع درد محیطی را دارد. در آزمون اسید استیک، درد از طریق میانجی‌گرهای اندوژن مانند برادی‌کینین، سروتونین، هیستامین، ماده P و پروستاگلاندین ایجاد می‌شود. تمامی میانجی‌گرها، نورون‌های نوسی‌سپتور محیطی را تحریک نموده و بر این اساس آزمون اسید استیک درد محیطی را باعث می‌شود (۲۲). اسید استیک تزریق شده به صورت درون‌صفاقی، موجب افزایش پروستاگلاندین‌ها در مایع صفاقی می‌گردد و بخشی از گیرنده‌های صفاقی را درگیر می‌نماید و سبب القا نفوذپذیری مویرگی و انقباض عضلات صاف می‌شود (۲۳). داروهای ضدالتهابی-ضداستروئیدی نظیر آسپیرین و ایندومتاسین، برای القای اثرات ضددردی به صورت محیطی عمل می‌کنند. مکانیسم عمل آن‌ها شامل مهار آنزیم‌های سیکلواکسیژناز و در نتیجه مهار سنتز پروستاگلاندین است. پروستاگلاندین، پایانه‌های اعصاب محیطی را فعال می‌کند. حساس‌شدن گیرنده‌های درد به وسیله پروستاگلاندین‌ها رابطه تنگاتنگی با انقباضات شکمی آزمون اسید استیک دارد (۲۴). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عصاره گیاه به صورت معنی‌داری پاسخ اسید استیک را به صورت وابسته به دوز مهار می‌کند. عصاره گیاه اوکالیپتوس، تعداد انقباضات شکمی را کاهش می‌دهد و احتمالا این عمل را از طریق مهار آنزیم‌های سیکلواکسیژناز در بافت‌های محیطی انجام می‌دهند.

آزمون صفحه داغ جهت ارزیابی درد حاد مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۵). در آزمون صفحه داغ، درد مرکزی در سطح نخاعی و فوق نخاعی ایجاد می‌شود (۲۶). در تحقیق حاضر، اثر عصاره اتانولی گیاه اوکالیپتوس موجب کاهش معنی‌داری بر تاخیر زمان در پاسخ به درد نمی‌شود. بنابراین، عصاره گیاه اوکالیپتوس بر درد حاد، بدون تاثیر است.

با توجه به نتایج تحقیق حاضر، عصاره اتانولی برگ گیاه اوکالیپتوس دارای اثرات ضددردی بر درد مزمن و نه درد حاد است و این اثر، قابل مقایسه با اثر مرفین است.

منابع

1- Hebbes, C., Lambert, D. 2007. Non-opioid analgesic drug. Anaesthesia and Intensive Care Medicine 9(2):79-83.

2- Remy, C., Marret, E., Bonnet, F. 2005. Effects of acetaminophen on morphine side effects and consumption after major surgery: meta-analysis of randomized controlled trials. Br J Anesthesia 94:505-13.

3- Etal, S., Siegel, G.J., Albers, R.W., Brady, S.T., Price, D.L. 2006. Basic neurochemistry molecular, cellular and medical aspects. Gazelle Publication. Seventh edition. 927-37.

4- Wise, R., Connett, J., Weinmann, G., Scanlon, P., Skeans, M. 2000. Effect of inhaled triamcinolone on the decline in pulmonary function in chronic obstructive pulmonary disease. N Engl J Med 343:1902-9.

۵-امامی، ا. ۱۳۸۱.گیاه درمانی. جلد دوم. انتشارات راه کمال. صفحه ۹-۲۱۵.

۶-مظفریان، و. ۱۳۸۳. درختان و درختچه های ایران. انتشارات فرهنگ معاصر. صفحه۵-۴۳۰.

7- Ashour, H.M. 2007. Antibacterial, antifungal, and anticancer activities of volatile oil and extracts from stem, leaves, and flowers of *Eucalyptus sideroxylon* and *Eucalyptus torquata*. Cancer Bio Ther 2;7(3): 399-403.

8- Neher, A., Gstottner, M., Thaurer, M., Augustigns, P., Reinelt, M. Schobersbrger, W. 2008. Influence of essential and fatty oil on ciliary beat frequency of human nasal epithelial cell. Am J Rhino 22(2):130-4.

9- Lu, X.Q., Tang, F.D., Wang, Y., Zhao, T., Bian, R.L. 2004. Effect of *Eucalyptus globulus* oil on lipopolysaccharide induced chronic bronchitis and mucine hypersecretion in rats. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi 29(2):168-71.

10- Vigo, E., Cepeda, A., Gualillo, O., Perez-Fernandez, R. 2004. In vitro anti-inflammatory effect of *Eucalyptus globulus* and *Thymus vulgaris*: nitric oxide inhibition in J774A, murin macrophages. J Pharmcol 56(2):257-63.

11- Gray, A.M., Flatt, P.R. 1998. Antihyperglycemic action of *Eucalyptus globulus* are associated with pancreatic and extrapancreatic effects in mice. J Nutr 128(12):2319-23.

12- Cermelli, C., Fabio, A., Fabio, G., Quaglio, P. 2008. Effect of eucalyptus essential oil on respiratory bacteria and viruses. Curr Microbiol 56(1):89-92.

13- Dubuisson, D., Dennis, S.G. 1977. The fomalin test: A quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rat and cats. Pain 4:161-74.

14- Collier, H.D.J., Dinnin, L.C., Johnson, C.A., Schneider, C. 1968. The abdominal response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. B J Pharmacol Chemother 32:295-310.

15- Bodi, T., Nodine, J.H. 1964. Clinical techniques for evaluation of anti-anxiety drugs. In: Nodine, J.H., Siegler, P.E. (Eds.), Animal and Clinical Pharmacologic Techniques in Drug Evaluation, 1st ed. Yearbook Medical, USA, 325-9.

16- Tjolsen, A., Berge, O.G., Hunskaar, S., Rosland, J.H., Hole, K. 1992. The formalin test: an evaluation of the method. Pain 51:5-17.

17- Shibata, M., Ohkubo, T., Takahashi, H., Inoki, R. 1989. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. Pain 38:347-52.

18- Hunskaar, S., Fasmer, O.B., Hole, K. 1985. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. Journal of Neuroscience Methods 4:69-76.

19- Martindale, J., Bland-Ward, P.A., Chessell, I.P. 2001. Inhibition of C-fiber mediated sensory transmission in the rat following intraplantar formalin. Neuroscience Letters 316:33-6.

20- Verma, P.R., Joharapurkar, A.A., Chatpalliwar, V.A., Asnani, A. 2005. Antinociceptive activity of alcoholic extract of *Hemidesmus indicus* in mice. Journal of Ethnopharmacology 102:298-301.

21- Gene, R.M., Segura, L., Adzet, T., Marin, E., Inglesias, J. 1998. Heterotheca inuloides: anti-inflammatory and analgesic effect. Journal of Ethnopharmacology 60:157-62.

22- Koster, R., Anderson, M., Beer, E.J. 1959. Acetic acid for analgesic screening. Fed Proc 18: 412.

23- Derardt, R., Jougney, S., Benzoni, J., Peterfalvi, M. 1980. Release of prostaglandins E and F in an algogenic reaction and its inhibition. European Journal of Pharmacology 61:17-24.

24- Marchioro, M., BlankMde, F., Mourao, R.H., Antoniolli, A.R. 2005. Antinociceptive activity of aqueous extract of *Erythrina velutina* leaves. Fitoterapia 76:637-42.

25- Wong, C.H., Day, P., Yarmush, J., Wu, W., Zbuzek, U.K. 1994. Nifedipine-induced analgesia after epidural injections in rats. Anesthesia and Analgesia 79:303-6