



Research Article

Investigating the Hydroalcoholic Extract of Cheese Plant on the Analgesic Effect of Morphine

Somaye Shabib^{1,*} , Ali Asghar Hemti² 

¹ Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

² Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

* **Corresponding author:** Somaye Shabib, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran. E-mail: shabib333@gmail.com

DOI: [10.61186/cmja.13.3.47](https://doi.org/10.61186/cmja.13.3.47)

How to Cite this Article:

Shabib S, Hemti AA. Investigating the Hydroalcoholic Extract of Cheese Plant on the Analgesic Effect of Morphine. *Complement Med J.* 2023;**13**(3):47-55. DOI: [10.61186/cmja.13.3.47](https://doi.org/10.61186/cmja.13.3.47)

Received: 26 May 2023

Accepted: 28 Jun 2023

Keywords:

Malva Sylvestris
Morphine
Tail Flick Test
Pain

© 2023 Arak University of
Medical Sciences

Abstract

Introduction: Traditional medicine reported the appropriate analgesic and anti-inflammatory effects of *Malva sylvestris*, The anti-inflammatory effect, which was proved by literature, made it likely that the plant would be effective in pain modulation. Therefore, the effect of its hydro-alcoholic extract on the analgesic effect of morphine was assessed for reducing morphine dosage.

Methods: Pain intensity was assessed using Tail Flick test at spot heat of 55°C and cut off time of 10 seconds on adult male rats. An appropriate dose of morphine to cause analgesia was determined intraperitoneally using dose-response method. The analgesic effect of different doses 100,200,400 and 600 mg/kg of *Malva sylvestris* extract and the effect of the doses on the analgesic property of an appropriate dose of morphine (2.5mg/kg) were examined.

Results: The best analgesic effect with the ability to increase the threshold for occurrence of tail painful reflex was related to dose 400 mg/kg of the extract, which its highest analgesic effect was observed in minute 45. Administration of the most effective dose of the extract with morphine significantly (p-value < 0.05) increased morphine's analgesic effect. Naloxone administration, 15 minutes before administration of this dose, could significantly (p-value < 0.05) decrease its analgesic effect.

Conclusions: Hydroalcoholic extract of *Malva sylvestris* (HEMS) is capable of increasing morphine's analgesic effect. Some of this effect is through its effect on opioid receptors, which are inhibited by Naloxone as an antagonist of morphine that is probably one of its analgesic mechanisms.

INTRODUCTION

Pain is an unpleasant feeling that is an important part of the body's defense system. In fact, pain provides a rapid warning to the nervous system to initiate a motor response in order to minimize physical damage. inability to experience pain; As seen in the rare congenital disease of insensitivity to pain (CIPA) (1), it can cause very serious and dangerous problems for health, such as causing damage to the point of organ failure in a part of the body by the patient and sometimes even causing amputation by become a person himself (2). The most important reported effects of *Malva sylvestris* flowers in traditional medicine include

analgesic, anti-inflammatory, antiseptic, astringent, laxative, diuretic, expectorant and uterine tonic effects (8).

METHODS

This current study was performed on 11 groups of male rats (n=6). The negative control group received only i.p. (intraperitoneally) normal saline (2 ml/kg). The standard (morphine) group received morphine intraperitoneally at a dose of 2.5 mg/kg. Hydro-Alcoholic extract of *Malva sylvestris* (HEMS) groups, received the extract intraperitoneally in different doses of in doses of 100, 200, 400 and 600 mg/kg. Moreover, HEMS plus morphine (2.5 mg/kg) groups received the

HEMS (100, 200, 400, and 600 mg/kg) following the administration of morphine (2.5 mg/kg), and eventually, the group that received the most effective dose of HEMS with naloxone (1 mg/kg).

RESULTS

According to the findings of the study, it can be concluded that the doses of 400 and 600 mg/kg of the HEMS show the greatest synergism effect on the analgesic effect observed with morphine at a dose of 2.5 mg/kg compared to other doses. On the other hand, since the analgesic effects observed with both doses (400 and 600 mg/kg) were not statistically different at most of the investigated time points ($PVALUE \leq 0.05$), therefore, according to a pharmacological principle, in theory, if several different doses of medicine do not have a significant difference in terms of effectiveness, the lowest dose will be the most desirable dose due to the less possibility of causing adverse effects. Considering these interpretations, the dose of 400 mg/kg extract is the most favorable dose to increase the analgesic effect of morphine due to its relatively similar efficacy to the higher dose of 600 mg/kg and probably less side effects than higher doses. Comparison of the analgesic effect of different doses of the extract alone and with morphine showed that the greatest analgesic effect occurs in the 45th minute after the administration of the extract.

CONCLUSIONS

In this study, it was determined that the combined use of morphine with a dose of 2.5 mg/kg and the extract of the plant with doses of 400 and 600 (mg/kg) intraperitoneally has the greatest analgesic effect compared to the use of morphine alone (with a dose of 2.5 mg/kg) and morphine combined with lower doses of the extract (200 and 100 mg/kg). The doses of 400 and 600 mg/kg extract with morphine showed a

significant difference from the 15th to the 60th minute of the experiment compared to the use of morphine alone (2.5 mg/kg). If the doses of 100 and 200 mg/kg extract with morphine showed a significant difference only in the 45th minute of the experiment compared to the use of morphine alone. These results confirm the choice of 400 mg/kg dose as the best dose for the analgesic effect of the extract. After choosing the dose of 400 mg/kg as the best dose for the analgesic effect of the extract, in order to determine one of the possible mechanisms of the analgesic effect of the plant, the best dose of the plant was administered together with naloxone (1 mg/kg), which significantly reduced the analgesic effect. Pain was the most appropriate dose of HEMS (400 mg/kg).

Ethical Considerations

The study's experimental design was approved by the Institutional Animal Ethics Committee (IAEC) of Jundishapur University of Medical Sciences (IR.AJUMS.REC.1394.356).

Funding

There is no funding support.

Authors' Contribution

Authors contributed equally to the conceptualization and writing of the article. All of the authors approved the content of the manuscript and agreed on all aspects of the work

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Acknowledgments

We would like to declare our special thanks to the Research Affairs of Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences for financial support. This study is from Pharm. D. thesis of Dr. Somayeh Shabib (Registration No. B – 91/022)



بررسی عصاره هیدرو الکلی گیاه پنیرک بر اثر ضد درد مورفین

سمیه شیب^{۱*}، علی اصغر همتی^۲ 

^۱ گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

^۲ گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران

* نویسنده مسئول: سمیه شیب، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران. ایمیل:

shahib333@gmail.com

DOI: 10.61186/cmja.13.3.47

چکیده	تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۰۵
مقدمه: در طب سنتی اثرات ضد درد و ضدالتهاب برای گیاه پنیرک (<i>Malva sylvestris L</i>) گزارش شده است. با توجه به اثبات اثر ضدالتهابی گیاه پنیرک در مطالعات قبل، به نظر می‌رسد که این گیاه بتواند بر تعدیل درد نیز مؤثر باشد. بنابراین اثر عصاره هیدرو الکلی گیاه پنیرک بر خاصیت ضد درد مورفین، جهت کاهش دوز مصرفی مورفین ارزیابی گردید.	تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۰۷
روش کار: در این مطالعه ارزیابی شدت درد با استفاده از آزمون Tail-flick با گرمای نقطه‌ای ۵۵°C و زمان قطع خودکار ۱۰ ثانیه بر روی موش‌های صحرایی نر بالغ انجام شد. دوز مناسب مورفین جهت ایجاد بی‌دردی بصورت داخل صفاقی با روش دوز-پاسخ تعیین گردید. اثر ضد درد دوزهای مختلف ۶۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ عصاره گیاه پنیرک و همچنین اثر این دوزها بر خاصیت ضد درد دوز مناسب مورفین (۲/۵mg/kg) مورد بررسی قرار گرفت.	واژگان کلیدی: گیاه پنیرک مورفین آزمون Tail-flick درد موش صحرایی
یافته‌ها: بهترین اثر ضد درد با توانایی افزایش آستانه ظهور رفلکس دردناک دم مربوط به دوز ۴۰۰ mg/kg عصاره بود که بیشترین اثر ضد درد آن در دقیقه ۴۵ مشاهده گردید. تجویز مؤثرترین دوز عصاره همراه با مورفین، اثر ضد درد مورفین را به صورت معنادار (P-value < ۰/۰۵) افزایش داد. تجویز نالوکسان با دوز (mg/kg) ۱۵، ۱۵ دقیقه قبل از تجویز این دوز، توانست اثر ضد درد آنرا بطور معنادار (P-value < ۰/۰۵) کاهش دهد.	تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی اراک محفوظ است.
نتیجه گیری: عصاره هیدرو الکلی گیاه پنیرک، قادر به افزایش اثر ضد درد مورفین بوده و بخشی از این اثر از طریق تأثیر آن بر گیرنده‌های اوبیوئیدی است که توسط نالوکسان بعنوان آنتاگونیست مورفین مهار می‌گردد و احتمالاً یکی از مکانیسم‌های ضد درد آن است.	

مقدمه

گل‌های پنیرک بیش از ۱۰ درصد موسیلاژ دارند. این موسیلاژ در اثر هیدرولیز، تبدیل به گالاتوز، آرابینوز، گلوکز، رامنوز و اسید گالاتورونیک می‌شود. همچنین گل‌های پنیرک حاوی مقدار کمی تانن و حدود یک دهم درصد لوکوانتوسیانین‌ها (نسبت به وزن خشک گل)، ۷ درصد آنتوسیانین‌ها (مالوین، دلفینیدین، مالویدین)، فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی می‌باشد (۵-۷). مهم‌ترین اثرات گزارش شده گل پنیرک در طب سنتی شامل اثرات ضد درد، ضد التهاب، ضد عفونی کننده، قابض، ملین، ادرار آور، خلط آور و مقوی رحم می‌باشد (۸). دم کرده‌ی گل‌های آن به خاطر داشتن موسیلاژ، یکی از داروهای خوب ضد سرفه است (۹). هم چنین در درمان آدم دهان و گلو مصرف می‌شود (۱۰). از سویی چون دارای خاصیت قابض ضعیف است، تا حدی به عنوان ضداسهال عمل می‌کند (۱۱). در طب سنتی از فرم خوراکی آن، به منظور برطرف کردن مشکلات مثانه و به صورت ضماد موضعی در التیام زخم‌ها استفاده می‌شود (۱۲). از رنگدانه‌های گیاه (حاوی آنتوسیانین‌ها)، در صنایع تولید مواد غذایی استفاده می‌شود (۱۳). گیاه پنیرک دارای اثرات سودمند جهت رفع سردردهای یک طرفه شدید، دل پیچه، ورم لوزه‌ها، درد گلو و آنژین می‌باشد (۱۳). تا کنون هیچگونه

درد یک احساس ناخوشایند است که از اجزاء مهم سیستم دفاعی بدن محسوب می‌گردد. در واقع درد یک هشدار سریع به سیستم عصبی برای شروع یک پاسخ حرکتی به منظور به حداقل رساندن آسیب فیزیکی را فراهم می‌کند. عدم توانایی تجربه درد؛ همانطور که در بیماری نادر مادرزادی عدم حساسیت به درد (CIPA) (۱) مشاهده می‌گردد، می‌تواند مشکلات بسیار جدی و خطرناک برای سلامتی مانند ایجاد آسیب تا حد نقص عضو در بخشی از بدن توسط شخص بیمار و گاهی حتی سبب قطع عضو توسط خود فرد گردد (۲).

گیاه پنیرک با نام علمی *Malva sylvestris* از خانواده Malvaceae (۳) گیاهی علفی، پایا، با ریشه‌ای دوکی شکل و ساقه‌ای بالا رونده و پوشیده از پرز به ارتفاع حدوداً ۱۰۰ تا ۱۲۰ سانتیمتر که به صورت خودرو، در بسیاری از نقاط ایران در مرغزارها، مراتع، کناره جنگل‌ها و بیشه زارها می‌روید و برای استفاده کشت نیز می‌گردد. گیاه پنیرک بومی اروپا، آفریقای شمالی، آسیا و مدیترانه می‌باشد. از تمام قسمت‌های گیاه به عنوان مواد دارویی استفاده می‌شود، اما گل و برگ گیاه استفاده بیشترین کاربرد را دارد (۴).

سانتیگراد) در زیر سایه خشک کرده و با آسیاب خرد کردند. سپس یک لیتر اتنول ۷۰ درصد به ۱۰۰ گرم از گل‌ها و اندام‌های هوایی گیاه *Malva sylvestris* اضافه و به مدت ۷۲ ساعت در محیط خنک و دور از نور نگهداری شد تا ترکیبات فعال آن استخراج شود. سپس مایع رویی جدا شد و به اواپراتور چرخشی منتقل شد تا حلال خارج شود. ۲۵ گرم عصاره هیدروالکلی از هر ۱۰۰ گرم اندام هوایی خشک و گل گیاه *Malva silvestris* به دست آمد (۱۷).

سنجش با دستگاه Tail Flick

Tail Flick یک سنجش معتبر و قابل اعتماد برای ارزیابی درد بر اساس رفتارهای ساده در حیوانات است که اولین بار توسط Fred D'Amour و Donn Smith (1941) توصیف شد (۱۸). اساس آزمایش القای یک محرک حرارتی دردناک از طریق تابش پرتوهای نور است. به این ترتیب پرتو نور ساطع شده از دستگاه روی نقطه خاصی از دم حیوان متمرکز می‌شود، با افزایش دما و احساس درد در نقطه برخورد پرتو نور با دم حیوان همراه است. برای به حداقل رساندن خطا، انجام اندازه‌گیری‌ها در همان قسمت دم حیوانات گروه‌های آزمایشی توصیه می‌شود. حیوانات در مهار کننده به گونه‌ای روی دستگاه قرار می‌گرفتند که نقطه کانونی نور در یک سوم آخر دم قرار می‌گرفت. محرک درد باعث می‌شود حیوان دم خود را بیرون بکشد که بلافاصله از تابش نور توسط چشم الکتریکی بسیار حساس دستگاه جلوگیری می‌کند و تایمر دستگاه را متوقف می‌کند. پس از توقف زمان در تایمر دستگاه Tail-Flick، امکان ثبت زمان لازم برای پاسخگویی حیوان توسط ناظر وجود دارد. مدت زمانی که از زمان قرار گرفتن در معرض نور تا لحظه برداشتن دم توسط حیوان می‌گذرد به عنوان معیاری برای ارزیابی شدت درد ثبت شد. زمان تأخیر در واقع فاصله زمانی بین تحریک و پاسخ است و تحت تأثیر مسکن‌ها طولانی‌تر می‌شود. دستگاه تست Tail-Flick مجهز به پارامتر قابل تنظیمی به نام زمان قطع می‌باشد که در به حداقل رساندن احتمال آسیب بافت جانوران بسیار مؤثر است. به این ترتیب که اگر حیوان پس از مدت معینی (قطع زمان) دم خود را از پرتو نور خارج نکند، برای جلوگیری از آسیب به بافت دم حیوان، نور به طور خودکار قطع می‌شود (۱۹).

در مطالعه حاضر، اندازه‌گیری‌ها با استفاده از دستگاه Tail Flick (LE7106 هاروارد، ایالات متحده آمریکا) با زمان قطع ۱۰ ثانیه و حداکثر دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد در نقطه کانونی پرتوهای نور انجام شد. سپس حیوانات همه گروه‌های مورد مطالعه از نظر زمان پاسخ به محرک دردناک در زمان‌های صفر و ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه اندازه‌گیری شدند. تأخیر تلنگر در حیوانات تمام گروه‌های مورد مطالعه در مقاطع زمانی مشخص شامل ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه پس از آخرین تزریق اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری‌ها سه بار تکرار شد و میانگین آنها در نظر گرفته شد.

تحلیل آماری

داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین (SEM) بیان شد. تفاوت‌های آماری بین مقادیر با استفاده از تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و سپس آزمون تعقیبی توکی برای متغیرهای کمی مقایسه شد. زمانی که PVal ها کمتر از ۰،۰۵ بودند، تفاوت‌ها معنی دار در نظر گرفته شد.

عارضه جانبی جدی با مصرف گل و یا برگ گیاه پنیرک گزارش نشده است (۱۴) امروزه کاربرد انواع اپیوئیدها در تسکین دردهای شدید و حاد رو به فزونی نهاده است اما این ترکیبات علی‌رغم اثر ضد درد خوب دارای آثار نامطلوب جدی مانند یبوست، تضعیف تنفسی، تحمل و وابستگی می‌باشند (۱۵). لذا هر تلاشی جهت کاهش دوز این داروها در کنار حفظ قدرت اثر آنها، گامی بزرگ در جهت کاهش عوارض جانبی بخصوص اثر اعتیاد زایی این ترکیبات و دپرسیون تنفسی آنها در کودکان بشمار می‌رود.

هدف از این تحقیق، بررسی اثر تقویت کننده عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک بر روی خاصیت ضد درد مورفین جهت کاهش دوز مورفین و در نتیجه کاهش عوارض جانبی آن می‌باشد

روش کار

جامعه مورد مطالعه، نمونه‌گیری و طرح پژوهش

آزمایش بر روی ۶۶ موش صحرایی نر جوان از گونه N. MARI و در محدوده وزنی ۱۵۰-۱۸۰ گرم انجام شد. این موش‌ها از مرکز تحقیقات حیوانات آزمایشگاهی واقع در دانشگاه جندی شاپور خریداری و در قفس‌های استاندارد در اتاق حیوانات دانشکده داروسازی نگهداری شدند. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای 23 ± 2 درجه سانتیگراد و رطوبت ۴۰ تا ۵۰ درصد قرار گرفتند و از نظر دسترسی به آب و غذا هیچ محدودیتی نداشتند. حیوانات حداقل ۴ ساعت قبل از آزمایش با امکانات آزمایشگاهی سازگار شدند که بر اساس دستورالعمل‌های اخلاقی انجمن بین‌المللی مطالعات درد در حیوانات آزمایشگاهی انجام شد (۱۶). طرح آزمایشی این مطالعه توسط کمیته اخلاق حیوانی سازمانی (IAEC) دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور (IR.AJUMS.REC.1394.356) تأیید شد. تمام آزمایش‌ها مطابق با دستورالعمل‌های مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی موسسه ملی بهداشت (۱۹۸۵) انجام شد.

گروه‌های آزمایشی

این مطالعه بر روی ۱۱ گروه موش صحرایی نر ($n=6$) انجام شد. گروه کنترل منفی فقط نرمال سالین داخل صفاقی (۲ میلی لیتر بر کیلوگرم) دریافت کردند. گروه استاندارد (مورفین) مورفین را به صورت داخل صفاقی با دوز $2/5 \text{ mg/kg}$ دریافت کردند. عصاره هیدروالکلی در گروه‌های دریافت کننده گیاه پنیرک، عصاره را در دوزهای مختلف ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. علاوه بر این، گروه‌های عصاره هیدروالکلی به علاوه مورفین، عصاره هیدروالکلی با دوزهای (۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را به دنبال تجویز مورفین (۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) دریافت کردند و در نهایت، گروهی که مؤثرترین دوز عصاره هیدروالکلی را با نالوکسان (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) دریافت کرد.

تهیه عصاره هیدروالکلی

در مجموع ۱۰۰۰ گرم زوفا در اوایل تابستان ۱۳۹۶ از باغ گیاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور (اهواز، ایران) جمع‌آوری و توسط متخصص گیاه‌شناسی تأیید شد. نمونه گیاهی در هر بارיום (کوپن شماره: PMP-1918) سپرده شد. HEMS به روش خیساندن تهیه شد. برای این منظور گله‌ها و شاخه‌های بالایی را در دمای اتاق (۲۵ درجه

روش کار

مطابق شکل ۱، دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره در ۳۰ و ۴۵ دقیقه آزمایش تفاوت معنی داری ($pvalue \leq 0.05$) را نسبت به گروه دریافت کننده نرمال سالیین نشان داد و این تفاوت در دقیقه ۴۵ از آزمون بیشتر مشهود بود.

عصاره هیدروالکلی پنیرک با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در دقیقه‌های ۳۰، ۴۵ و ۶۰ آزمون، تفاوت معنی داری ($pvalue \leq 0.05$) را نسبت به گروه دریافت کننده نرمال سالیین نشان داد که در دقیقه ۴۵ آزمایش بارزتر بود.

دوزهای ۴۰۰ mg/kg و ۶۰۰ mg/kg عصاره در مقاطع زمانی ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه پس از مصرف عصاره نسبت به گروه دریافت کننده نرمال سالیین تفاوت معنی داری ($pvalue \leq 0.05$) نشان داد. این تفاوت مانند سایر گروه‌های دریافت کننده عصاره در دقیقه ۴۵ بیشتر بود.

نتایج حاصل از تأثیر دوزهای مختلف عصاره بر اثر ضد درد مورفین با دوز ۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم در آزمون تیل فلیک نشان داد که تجویز همزمان عصاره با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم دوز مناسب مورفین در ۴۵ دقیقه آزمایش ($PVALUE \leq 0.05$) در مقایسه با گروه دریافت کننده مورفین به تنهایی اثر ضددردی بیشتری دارد (شکل ۲).

از طرفی استفاده از دوزهای ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره همراه با دوز مناسب مورفین (۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم) نسبت به مورفین به تنهایی در مقاطع زمانی ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ آزمایش به‌طور معنی‌داری ($pvalue \geq 0.05$) باعث افزایش اثر ضد دردی مورفین شد که در دقیقه ۴۵ آزمایش نسبت به سایر زمان‌های مورد بررسی بارزتر بود. (شکل ۲).

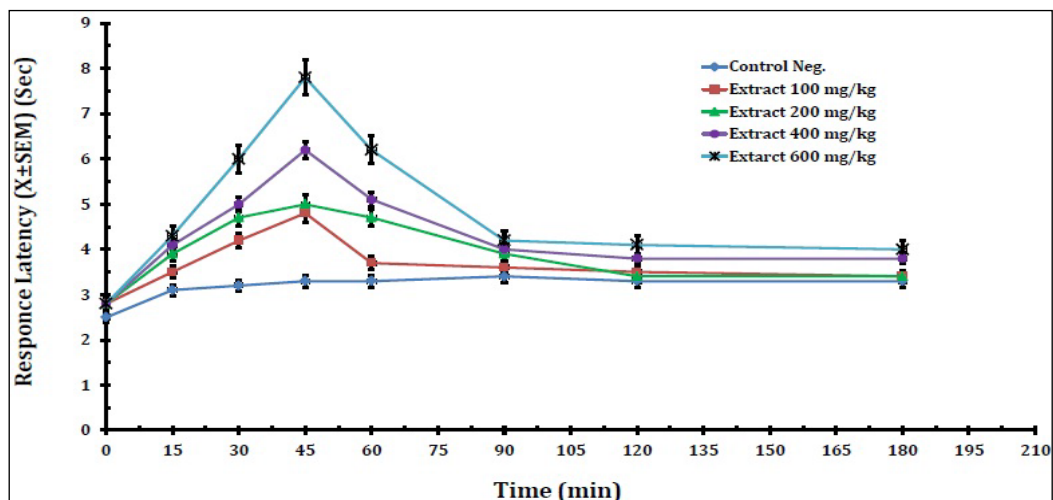
در مرحله بعد، اثر ضد درد نالوکسان به عنوان آنتاگونیست غیرانتخابی و رقابتی گیرنده مواد افیونی با گروه کنترل منفی دریافت کننده نرمال سالیین مقایسه شد. در ارزیابی اثر ضد درد، نتایج نشان داد که گروه دریافت کننده نالوکسان (۱ میلی گرم بر کیلوگرم) در تمام مقاطع زمانی

نسبت به گروه کنترل منفی که نرمال سالیین (۵ میلی لیتر بر کیلوگرم) دریافت کرده بودند، تفاوت معنی داری نداشت (شکل ۳).

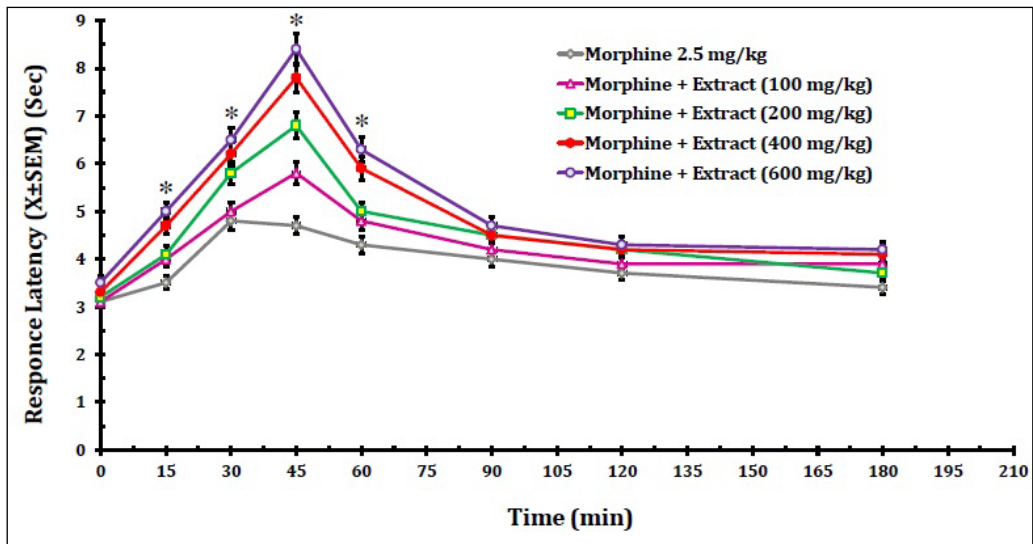
در شکل ۴، ارزیابی اثر ضد درد تزریق داخل صفاقی نالوکسان (۱ میلی گرم بر کیلوگرم) همراه با دوز مناسب مورفین (۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم) نسبت به مورفین به تنهایی نشان داد که تجویز نالوکسان ۱۵ دقیقه قبل از تجویز مورفین به طور قابل توجهی ($PVALUE \leq 0.05$) باعث کاهش اثر ضد دردی مورفین، به ویژه در نقاط زمانی ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ شد (شکل ۴).

به منظور پیشنهاد مکانیسم احتمالی اثر عصاره، ارزیابی اثر ضد درد عصاره به همراه نالوکسان با نتایج گروه دریافت کننده عصاره به تنهایی مقایسه شد. برای این منظور، نتایج گروه دریافت کننده بهینه‌ترین دوز عصاره (۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) به همراه نالوکسان (۱ میلی گرم بر کیلوگرم) با نتایج گروه دریافت کننده بهینه‌ترین دوز عصاره (۴۰۰) مقایسه شد. (mg/kg) به تنهایی. استفاده از نالوکسان می‌تواند اثر ضد درد عصاره را در زمان‌های ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ آزمایش به طور قابل توجهی کاهش دهد (شکل ۵).

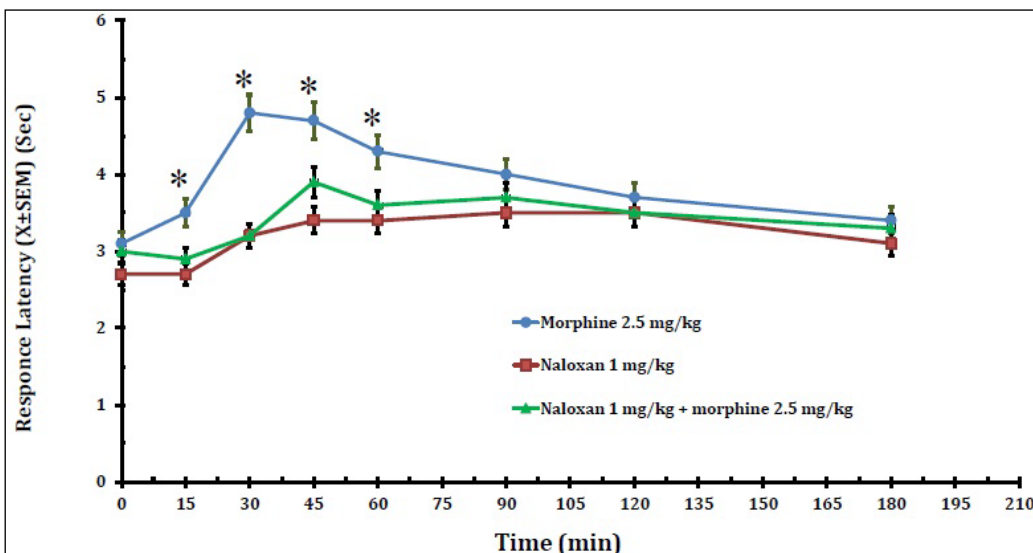
با توجه به یافته‌های مطالعه، می‌توان نتیجه گرفت که دوزهای ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم HEMS بیشترین اثر هم افزایی را بر اثر ضد درد مشاهده شده با مورفین در دوز ۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به سایر دوزها نشان می‌دهد. از سوی دیگر، از آنجایی که اثرات ضددردی مشاهده شده با هر دو دوز (۴۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) در اکثر نقاط زمانی مورد بررسی تفاوت آماری نداشت ($PVALUE \leq 0.05$)، بنابراین، طبق یک اصل فارماکولوژیک، در تئوری، اگر چندین دوز مختلف دارو از نظر اثربخشی تفاوت معنی داری ندارند، کمترین دوز به دلیل احتمال کمتر ایجاد عوارض، مطلوب‌ترین دوز خواهد بود. با توجه به این تفاسیر، دوز ۴۰۰ mg/kg عصاره به دلیل اثربخشی نسبتاً مشابه با دوز بالاتر ۶۰۰ mg/kg و احتمالاً عوارض جانبی کمتر نسبت به دوزهای بالاتر، مطلوب‌ترین دوز برای افزایش اثر ضد درد مورفین است. مقایسه اثر ضد دردی دوزهای مختلف عصاره به تنهایی و با مورفین نشان داد که بیشترین اثر ضد درد در دقیقه ۴۵ پس از مصرف عصاره رخ می‌دهد.



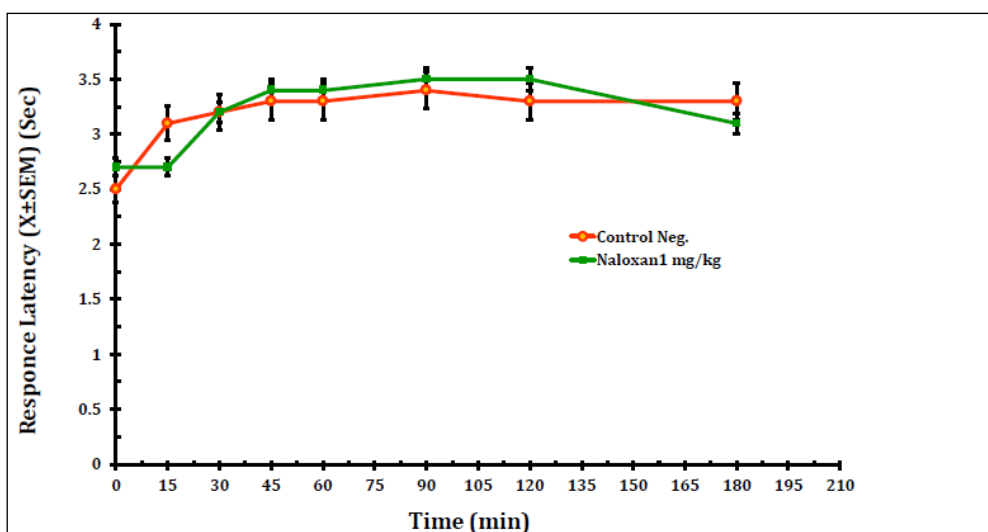
شکل ۱. مقایسه اثر تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک و نرمال سالیین (۵ml/100gr) بر زمان پاسخ‌دهی به محرک درد در آزمون Tail-Flick (n=6, mean±SEM).



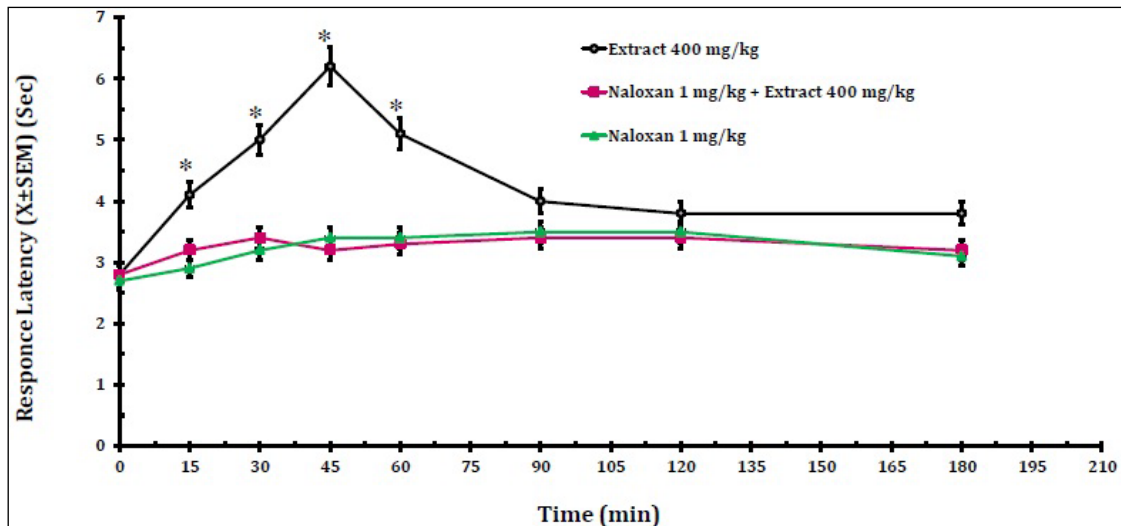
شکل ۲. مقایسه اثر تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک همراه با مورفین و مورفین به تنهایی (۲/۵ mg/kg) بر زمان پاسخدهی به محرک دردزا در آزمایش Tail-Flick (n=6, mean±SEM).



شکل ۳. مقایسه اثر تزریق داخل صفاقی همزمان نالوکسان با دوز (1 mg/kg) و نورمال سالین (۰/۵ ml/100gr) بر زمان پاسخدهی به محرک دردزا در آزمایش Tail-Flick (n=6, mean±SEM).



شکل ۴. مقایسه اثر تزریق داخل صفاقی همزمان نالوکسان با دوز (1 mg/kg) و مورفین (۲/۵ mg/kg) بر زمان پاسخدهی به محرک دردزا در آزمون Tail-Flick. (* نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه دریافت کننده مورفین (۲/۵ mg/kg) و گروه دریافت کننده نالوکسان (1 mg/kg) به همراه مورفین (۲/۵ mg/kg)، (Mean±SEM)، n=6.



شکل ۵. مقایسه اثر تزریق داخل صفاقی همزمان بهترین دوز عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک با دوز (۴۰۰ mg/kg) همراه با نالوکسان با دوز (1 mg/kg) بر زمان پاسخ دهی به محرک دردزا در آزمون Tail-Flick. (* نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه دریافت کننده عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک (۴۰۰ mg/kg) به تنهایی و گروه دریافت کننده نالوکسان (1 mg/kg) به همراه عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک (۴۰۰ mg/kg)؛ (Mean±SEM), n=6)

مارونان (Maronane) و همکاران در سال ۲۰۱۱ اثر آنتی اکسیدانی گیاه پنیرک را به دو روش اندازه گیری DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) و Nitroblue Tetrazolium (NBT) بررسی کردند. برای این منظور، به ۸۰ سر موش صحرایی مقدار ۰/۲۴ mmol/kg آمونیم متوانادات همراه آب آشامیدنی به مدت ۹۰ روز متوالی خوراندند و پس از آن میزان پراکسیداسیون لیپیدی و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز در کلیه اندازه گیری شد. افزایش مقادیر رادیکال‌های آزاد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی قابل توجه بود. علاوه بر این، در بررسی‌های بافت‌شناسی کلیه، و خامت ساختاری کپسول‌های قشری کلیه و کوچک شدن فضای بومن مشخص گردیده است. در این مطالعه، حیوانات دچار مسمومیت ناشی از متوانادات عصاره گیاه پنیرک (با دوز معادل ۰/۲ گرم گیاه خشک به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) دریافت کردند. بعد از درمان هیچ‌یک از عوارض پاتولوژیک توصیف شده مشاهده نگردید و سطح پراکسیداسیون لیپیدی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و شاخص‌های بافتی در مقایسه با گروه شاهد منفی همگی طبیعی گزارش گردیده است. در این مطالعه بیان گردیده است که گیاه پنیرک به دلیل داشتن میزان بالای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی دارای اثرات قوی آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (۲۲).

نتایج مطالعه حاضر بر روی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک بر خاصیت ضد درد مورفین نشان می‌دهد که عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک بصورت وابسته به دوز موجب کاهش درد ناشی از محرک دردزای حرارتی می‌گردد. تمامی دوزهای در نظر گرفته شده از عصاره (۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم) در دقیقه ۴۵ آزمایش به طور معنی‌داری خاصیت ضد درد نشان دادند. از آنجا که در تمامی دوزهای مورد مطالعه عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک بیشترین اثر در دقیقه ۴۵ ظاهر شده بود، لذا دقیقه ۴۵ آزمایش به عنوان بهترین زمان اثر بخشی عصاره شناخته شد. دوزهای ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم عصاره گیاه پنیرک از دقیقه ۱۵ تا دقیقه ۶۰ آزمایش در میزان پاسخ به محرک

بحث

اجزاء مختلف گیاه پنیرک بطور گسترده موضوع انواع تحقیقات در حیطه تخصص‌های مرتبط با علوم پزشکی و بویژه تحقیقات فارماکولوژیک قرار گرفته و اثرات سودمند متعددی برای آن به اثبات رسیده است. در یک مطالعه بالینی در مرکز تحقیقات پوست دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران در سال ۲۰۱۰ میلادی اثر گیاه پنیرک بر روی اگزما در ناحیه دست بررسی گردید. در این مطالعه که بر روی بیماران مبتلا به اگزمای دست مراجعه کننده به بیمارستان شهدای تجریش و بیمارستان لقمان انجام شده است. تعداد ۵۰ بیمار از هر دو جنس، به دو گروه تقسیم، به بیماران یک گروه پماد ۴ درصد پنیرک و به گروه دیگر، اسیرین به عنوان دارونما تجویز و بعد از ۶ هفته، وضعیت بهبودی و عوارض جانبی در بیماران بررسی شد و نتیجه گرفتند که پماد پنیرک در درمان اگزماهای خفیف، مؤثر و ایمن بوده و می‌تواند جایگزین مناسبی برای کورتیکواستروئیدها و آنتی هیستامین‌ها در درمان اگزمای دست باشد. از آنجاییکه اگزما یک بیماری التهابی است، بهبود این بیماری توسط عصاره گیاه پنیرک، نشان دهنده اثر ضد التهابی عصاره پنیرک است (۲۰).

در مطالعه‌ای دیگر جهت بررسی اثر ضد التهابی عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک از مدل القاء با کاراژینان یک درصد (وزنی-حجمی) استفاده گردید. در این مطالعه ۶۰ سر موش صحرایی نر بطور تصادفی به ۶ گروه ۱۰ تایی تقسیم شده است. ۴ گروه از حیوانات تحت عنوان گروه‌های درمانی، دوزهای (۶۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ mg/kg) از عصاره گیاه پنیرک را بصورت داخل صفاقی تجویز نموده‌اند. از داروی اسپرین به عنوان عامل استاندارد ضد التهاب در گروه شاهد مثبت استفاده گردیده است. در گروه شاهد منفی، حیوانات نرمال سالیین بصورت داخل صفاقی دریافت نموده‌اند. نتایج مطالعه نشان داده است که دوز ۶۰۰ mg/kg اثری معادل اسپرین داشته و اثر ضد التهاب عصاره گیاه وابسته به دوز می‌باشد (۲۱).

۴۰۰ به عنوان بهترین دوز برای اثر ضد درد عصاره را تأیید می‌کند. پس از انتخاب دوز ۴۰۰ mg/kg به عنوان بهترین دوز برای اثر ضد درد عصاره، جهت تعیین یکی از مکانیسم‌های احتمالی اثر ضد درد گیاه، بهترین دوز از گیاه به همراه نالوکسان (۱ mg/kg) تجویز گردید که موجب کاهش معنی‌دار اثر ضد درد مناسب‌ترین دوز عصاره هیدروالکلی پنیرک (۴۰۰ mg/kg) گردید. نتایج مطالعه کنونی نشان می‌دهد که عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک بصورت وابسته به دوز موجب کاهش درد ناشی از محرک حرارتی می‌شود.

در دسترس بودن داده‌ها

نویسندگان تأیید می‌کنند که داده‌های حمایت‌کننده از یافته‌های این مطالعه در مقاله موجود است.

تضاد منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ تضاد منافع وجود ندارد.

قدرانی

حمایت مالی برای این مطالعه توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اهواز، اهواز، ایران (Grant No. B-9428) ارائه شد.

References

- Axelrod FB, Hilz MJ. Inherited autonomic neuropathies. *Seminars in neurology*; Copyright© 2003 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New2003.
- Malynovsky A, Grubnik V. Twenty years of experience in laparoscopic repair of hiatal hernia: analysis of long-term results of 2500 procedures.
- Marinho BM. Revisão bibliográfica dos efeitos biológicos das principais amigas brasileiras, e avaliação da toxicidade oral e efeito cicatrizante tópico da arnica brasileira, *Lychnophora ericoides* Mart (Asteraceae), no tratamento de feridas cutâneas em modelo animal 2022.
- Barros L, Carvalho AM, Ferreira IC. Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris*: a comparative study of the nutraceutical potential and composition. *Food Chem Toxicol.* 2010;48(6):1466-1472. doi: 10.1016/j.ft.2010.03.012 pmid: 20233600
- Gasparetto JC, Martins CA, Hayashi SS, Otukey MF, Pontarolo R. Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva sylvestris* L.: a millennial herbal medicine. *J Pharm Pharmacol.* 2012;64(2):172-189. doi: 10.1111/j.2042-7158.2011.01383.x pmid: 22221093
- Takeda K, Enoki S, Harborne JB, Eagles J. Malonated anthocyanins in Malvaceae: Malonylmalvin from *Malva sylvestris*. *Phytochemist.* 1989;28(2):499-500. doi: 10.1016/0031-9422(89)80040-8
- Wallace TC, Giusti MM. Anthocyanins. *Adv Nutr.* 2015;6(5):620-622. doi: 10.3945/an.115.009233 pmid: 26374184
- Bridle P, Timberlake C. Anthocyanins as natural food colours-selected aspects. *Food Chemist.* 1997;58(1-2):103-109. doi: 10.1016/S0308-8146(96)00222-1
- Mousavi SM, Hashemi SA, Behbudi G, Mazraedoost S, Omidifar N, Gholami A, et al. A Review on Health Benefits of *Malva sylvestris* L. Nutritional Compounds for Metabolites, Antioxidants, and Anti-Inflammatory, Anticancer, and Antimicrobial Applications. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2021;2021:5548404. doi: 10.1155/2021/5548404 pmid: 34434245
- Rezaei-pour N, Jafari F, Rezaei-zadeh H, Nasserli M, Kamalinejad M, Ghobadi A. Efficacy of a Persian medicine herbal compound (*alcea digitata* alef and *malva sylvestris* L.) on prevention of

دردزا، نسبت به گروه دریافت‌کننده آب مقطر اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) نشان دادند. ضمن اینکه این اختلاف در مقایسه با گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای پایین‌تر عصاره در دقایق مشابه، بطور مشهودتری معنی‌دار بود. در نتیجه بدلیل یکسان بودن خاصیت ضد درد در دوزهای ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره و پایین‌تر بودن دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از لحاظ کاهش میزان تجویز شده دارو و کاهش احتمال بروز عوارض جانبی دارویی، دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره به عنوان بهترین دوز ضد درد گیاه شناخته شد.

نتیجه‌گیری

همچنین در این مطالعه مشخص گردید که کاربرد توأم مورفین با دوز ۲/۵ mg/kg و عصاره گیاه پنیرک با دوزهای ۴۰۰ و ۶۰۰ mg/kg بصورت داخل صفاقی دارای بیشترین اثر ضد درد در مقایسه با کاربرد مورفین به تنهایی (با دوز ۲/۵ mg/kg) و نیز مورفین توأم با دوزهای پایین‌تر عصاره (۲۰۰ و ۱۰۰ mg/kg) می‌باشد. دوزهای ۴۰۰ mg/kg و ۶۰۰ عصاره همراه با مورفین از دقیقه ۱۵ تا ۶۰ آزمایش نسبت به کاربرد مورفین به تنهایی (۲/۵ mg/kg) اختلاف معنی‌دار نشان دادند. در صورتی که دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره به همراه مورفین، تنها در دقیقه ۴۵ آزمایش نسبت به کاربرد مورفین به تنهایی اختلاف معنی‌دار نشان دادند. این نتایج انتخاب دوز mg/kg

- radiation induced acute mucositis in patients with head and neck cancer: A pilot study. *Int J Cancer Manage.* 2017;10(9). doi: 10.5812/ijcm.8642
- Delfine S, Marrelli M, Conforti F, Formisano C, Rigano D, Menichini F. Variation of *Malva sylvestris* essential oil yield, chemical composition and biological activity in response to different environments across Southern Italy. *Indust Crop Product.* 2017;98:29-37. doi: 10.1016/j.indcrop.2017.01.016
- Miraldi E, Ferri S, Mostaghimi V. Botanical drugs and preparations in the traditional medicine of West Azerbaijan (Iran). *J Ethnopharmacol.* 2001;75(2-3):77-87. doi: 10.1016/S0378-8741(00)00381-0 pmid: 11297838
- Qaisar U, Afzal M, Tayyeb A. Commercial application of plant pigments. *Int J Biotech Trend Technol.* 2019;9(3):18. doi: 10.14445/22490183/IJBTT-V9I3P604
- McKernan MM. Old world medicinal plants of the marketplaces of Quito, Ecuador: Southern Illinois University at Carbondale 1999.
- Gunther T, Dasgupta P, Mann A, Miess E, Kliever A, Fritzwanker S, et al. Targeting multiple opioid receptors - improved analgesics with reduced side effects? *Br J Pharmacol.* 2018;175(14):2857-2868. doi: 10.1111/bph.13809 pmid: 28378462
- Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain.* 1983;16(2):109-110. doi: 10.1016/0304-3959(83)90201-4 pmid: 6877845
- Bagheri Z, Azizi A, Oshvandi K, Mohammadi Y, Larki-Harchegani A. The Effect of Comfrey on Enoxaparin-Induced Bruise in Patients with Acute Coronary Syndrome: A Randomised Clinical Trial. *J Pharmacopuncture.* 2021;24(4):196-205. doi: 10.3831/KPL.2021.24.4.196 pmid: 35028171
- D'Amour FE, Smith DL. A method for determining loss of pain sensation. *J Pharmacol Exp Ther.* 1941;72(1):74-79.
- Larki-Harchegani A, Ehsanikia A, Ataei S, Hosseini F, Haddadi R. Effect of Hydroalcoholic Extract of Hyssop on Acute Pain in Male Rats Using Tail Flick Test. *Avicenna J Pharmaceut Res.* 2021;2(1):15-19. doi: 10.34172/ajpr.2021.03
- Barikbin B, Maarefat A, Rahgoshai R, Moravvej H, Mohtasham N, Yousefi M. *Malva Sylvestris* in the treatment of hand eczema. *Iran J Dermatol.* 2010;13(4):131-134.

21. Arzi A, Nazarikhoraşani Z, Rahmani M. Study the effects of malva sylvestris hydro-alcoholic extract on the carrageenan-induced inflammation in male rat paw. 2013.
22. Marouane W, Soussi A, Murat JC, Bezzine S, El Feki A. The protective effect of Malva sylvestris on rat kidney damaged by vanadium. *Lipids Health Dis.* 2011;10:65. doi: 10.1186/1476-511X-10-65 pmid: 21513564