Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2012; 15(64): 66-75

Investigation of the possible mechanism of antinociceptive effect of Apium graveolens hydroalcoholic fruits extract

Nasri S(M.Sc)[1*], Shahi Sadrabadi F(M.Sc)[1], Kamalinejad M(M.Sc)[2], Rabbani T(M.Sc)[1]

1- Department of Biology, Payamnoor University, Tehran, Iran
2- Department of Pharmacognosy, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

Received: 15 Aug 2011, Accepted: 27 Dec 2011

Abstract

Background: There is some evidence of antinociceptive effect of hydroalcoholic extract of Apium graveolens fruits in some recent studies. In present study, the possible mechanism of this effect of extract has been evaluated.

Materials and Methods: In this experimental study, 48 male mice were examined. To evaluate the antinociceptive effect of extract, formalin test was used. The possible mechanism of extract was investigated with interaction of 3 drugs [Naloxone (2mg/kg), Dextromethorphan (20 mg/kg), L-NAME (20 mg/kg)] and Hydroalcoholic extract of apium graveolens fruits.(400 mg/kg)

Results: Administration of Naloxone had no effect on antinociception of Hydroalcoholic extract of apium graveolens fruits. There was no significant difference between Dextromethorphan Plus extract and extract group in first phase. Pretreatment with L-NAME, decreased antinociceptive effect of extract in second phase of formalin test($p<0.05$)

Conclusion: Dextromethorphan has analgesic effect in acute phase and its interaction with hydroalcoholic extract of apium graveolens fruits shows at least, part of antinoceceptive effect of extract is via NMDA receptors in acute phase. On the other hand, it seems part of antinoceceptive effect of extract is via inhibition of NO syntheses in chronic phase. Extract of Apium graveolens may be effect via other neural pathways such as dopamine, noradrenalin or serotonin that need more research.

Keywords: Apium graveolens, Dextromethorphan, L-NAME, extract, Mice

*Corresponding author:
Address: Department of Biology, Payamnoor University, Tehran, Iran
Email: nasri@tpnu.ac.ir

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال 15، شماره 5 (شماره پیاپی 64)، مهر 1391، 75-66

بررسی مکانیزم های احتمالی اثر ضد دردی عصاره هیدروالکلی میوه کرفس

سیما نصری[*1]، فاطمه شاهی صدرآبادی[2]، محمد کمالی نژاد[3]، طاهره ربانی[2]

1- استادیار، دکتری تخصصی زیست شناسی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
2- مربی، کارشناس ارشد زیست شناسی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
3- مربی، کارشناس ارشد فیتوشیمی، گروه فارماکوگنوزی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 90/5/25 تاریخ پذیرش: 90/10/7

چکیده

زمینه و هدف: از آنجائی که در مطالعات قبلی، شواهدی دال بر اثر ضد دردی عصاره هیدروالکلی کرفس دیده شده است، در پژوهش حاضر، مکانیزم‌های احتمالی اثر این عصاره مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی از موش کوچک نر استفاده شد. به منظور بررسی اثر ضد دردی عصاره تست فرمالین مورد استفاده قرار گرفت و با تداخل سه دارو (نالوکسان با دوز 2 میلی‌گرم بر کیلو گرم، دکسترومتورفان با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم و L-NAME با دوز 10 میلی‌گرم بر کیلو گرم) و عصاره هیدروالکلی میوه کرفس (400 میلی‌گرم بر کیلو گرم) مکانیزم احتمالی عصاره بررسی شد.

یافته‌ها: تجویز نالوکسان تاثیری بر اثر ضد دردی عصاره هیدروالکلی میوه کرفس نداشت. تداخل دکسترومتورفان و کرفس نشان می‌دهد که بین گروه دریافت کننده دکسترومتورفان و عصاره نسبت به گروه دریافت کننده دارو به تنهایی تفاوت معنی‌داری در فاز اول وجود ندارد. پیش تیماری با L- NAME سبب کاهش اثر ضددردی عصاره میوه کرفس در فاز دوم تست فرمالین شد($p< 0/05$).

نتیجه‌گیری: با توجه به این که دکسترومتورفان خود در فاز حاد اثر ضددردی دارد، تداخل دکسترومتورفان و عصاره نشان می‌دهد که ممکن است حداقل بخشی از اثر ضد دردی عصاره در فاز حاد از طریق گیرنده‌های NMDA باشد. از طرف دیگر، احتمالاً بخشی از اثرات ضددردی عصاره در فاز مزمن مربوط به مهار آنزیم نیتریک اکسیدسنتتاز است. عصاره کرفس ممکن است از طریق مسیرهای عصبی دیگر نظیر مسیرهای دوپامینی، نورآدرنالین یا سروتونین نیز اثر کند که نیاز به پژوهش بیشتر دارد.

واژگان کلیدی: کرفس، دکسترومتورفان، L-NAME، موش

***نویسنده مسئول:** تهران، دانشگاه پیام نور، گروه زیست شناسی

Email: nasri@tpnu.ac.ir

مقدمه

کرفس(*Apium graveolens*) از تیره Apiales و از خانواده Umblliferae می‌باشد(1) که گیاهی علفی، دو ساله و دارای ساقه منشعب می‌باشد. میوه‌های کوچک، بیضوی و بدون بال، به رنگ قهوه‌ای با خطوط سفید دارد(2). منشاء آن، جنوب اروپا است، ولی امروزه به عنوان سبزی در قسمت‌های مختلفی از جهان کاشت می‌شود(1). همه بخش‌های گیاه بسیار معطر هستند(3، 4). در گذشته شیره تازه برگ برای رفع تب نوبه به کار می‌رفته است. در استعمال خارجی، له شده برگ تازه گیاه بر روی محل ضرب خوردگی گذاشته می‌شد. ریشه این گیاه در شربت 5 ریشه همراه با مار چوبه، کوله خاس، رازیانه و جعفری جهت درمان آلبومینوری‌های مزمن و دفع سنگ کلیه مصرف می‌شود و مدر است(1).

علاوه بر اثرات مختلف ذکر شده بالا، ثابت شده است که عصاره هیدروالکلی دانه کرفس دارای اثر ضد دردی و ضد التهابی می‌باشد(5). هم‌چنین در پژوهش قبلی، اثر ضد دردی عصاره هگزانی در تست فرمالین معلوم شده است. به علاوه، عصاره آبی و هگزانی دارای اثر ضد التهابی در تست گزیلن است(6) و اخیرا اثرات مختلف فیزیولوژیکی مانند ضد التهابی و ضد سرطانی به آن نسبت داده شده است(7، 8). دانه کرفس حاوی ترکیبات آنتی اکسیدانت بوده(9) و اثرات ضد سرطانی آن مربوط به فالکارینول (Falcarinol) است که فعال‌ترین ترکیب سیتوتوکسیک و جزء پلی استیلن‌ها می‌باشد(10). اخیرا آلرژن بودن آن نیز ثابت شده است(11). از طرف دیگر می‌دانیم مسیرهای مختلفی در ایجاد درد موثرند. مکانیزم فوق نخاعی که به واسطه گیرنده‌های میو موجب اثرات بی‌دردی مورفین می‌شود(12). مورفین از مشتقات تریاک (Opium) می‌باشد که یک ماده مخدر نارکوتیک با اثر ضد درد قوی است که به طور وسیع در تسکین دردهای شدید کاربرد دارد. مورفین با اثر ضد دردی و سرخوشی بیشترین اثر خود را زمانی ایجاد می‌کند که داخل نخاع تزریق شود. تأثیر مورفین در سیناپس‌های مسیرهای دردی (گیرنده‌های درد) است که با پیوند شدن در مکان‌های خاص گیرنده‌های اوپیوئیدی عمل می‌نماید(13).

عمل آنالژزیکی مورفین می‌تواند توسط آنتاگونیست مخدری نالوکسان (Naloxone) مهار شود که البته ماده ذکر شده به طور رقابتی به گیرنده‌های اوپیوئیدی حمله می‌کند(14).

نالوکسان آنتاگونیست گیرنده‌های اپیوئیدی است و جهت درمان عوارض سوء مصرف و مسمومیت حاصل از مصرف بیش از حد مورفین به کار می‌رود. گیرنده‌های اپیوئیدی را در نخاع و مراکز بالاتر مهار کرده و از طریق مهار این گیرنده‌ها سبب هیپرآلژزیا (پردردی) می‌شود(15).

ماده P میانجی عصبی احتمالی در مورد پایانه های عصبی درد مزمن از نوع C می‌باشد. مطالعات تجربی این احتمال را مطرح کرده‌اند که ممکن است پایانه‌های درد نوع C هنگام ورود به نخاع هردو میانجی گلوتامات و ماده P را ترشح کنند. میانجی گلوتامات سریعاً اثر می‌کند و اثر آن تنها چند میلی ثانیه طول می‌کشد. اما ماده P بسیار کندتر ترشح می‌گردد و غلظت آن طی ثانیه‌ها و حتی دقایق بعد افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسدکه میانجی عصبی گلوتامات بیشتر در هدایت درد تند به دستگاه مرکزی اعصاب دخیل است در حالی که ماده P و سایر پپتیدهای مربوطه در درد مزمن دخالت دارند(16). گلوتامات یک ماده میانجی عصبی است که از انتهای فیبرهای سریع A دلتا آزاد می‌شود و به واسطه گیرنده‌های خود در این مسیر نقش مهمی در ایجاد حس درد ایفا می‌کند که به واسطه مهار آنها می‌توان شیوه‌های جدیدی را برای درمان درد ایجاد کرد(17).

دکسترومتورفان با اثر بر گیرنده‌های گلوتاماتی از نوع ان- متیل -دی اسپارتیک اسید (NMDA) اثر ضددردی بر جای می‌گذارد و با انسداد این گیرنده-کانال‌ها و مهار ورود یون‌های کلسیم و سدیم تاثیر خود را می‌گذارد(18).

ان-نیترو-ال-آرژینین متیل استر(L-NAME) مهار کننده ناقص آنزیم نیتریک سنتتاز است و از ترکیبات ضددردی محسوب می‌شود که برای آن که اثر مهاری

کاملی بر جای بگذارد نیاز به هیدرولیز متیل استر دارد تا ضددردی را تشدید کند(19).

همان‌طور که اشاره شد در پژوهش‌های قبلی اثر ضد دردی عصاره هیدروالکلی، هگزانی و آبی میوه کرفس ثابت شده است(6،5). در این پژوهش به دنبال تعیین مکانیزم‌های اثر ضددردی عصاره از طریق تداخل عصاره با مسیرهای موثر در درد هستیم.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، از میوه گیاه کرفس (تهیه شده از فروشگاه‌های گیاهان دارویی که در هرباریوم بخش فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه شهید بهشتی مورد تایید قرار گرفت) پس از اطمینان از خلوص آن استفاده شد. میوه‌ها در شرایط استاندارد، دور از نور خورشید، رطوبت، آلودگی میکروبی با تهویه مناسب و در سایه خشک شدند. جهت آسیاب کردن، میوه‌ها را ابتدا از هر نوع آلودگی پاک کرده و از آسیاب الکتریکی برای پودر کردن میوه استفاده شد. جهت تهیه عصاره از روش پرکولاسیون (Percolation) استفاده شد. در این روش با فشار مواد موثره استخراج می‌شود. برای این منظور 100 گرم از میوه گیاه را پس از خرد کردن با 750 میلی‌لیتر الکل متانول 80 درجه خیس کرده، به نحوی که حلال کاملاً روی پودر میوه را می‌گیرد، درب آن را نیز بسته و تا 24 ساعت کنار گذاشته و بعد عصاره را صاف کرده و بقایای ماده خشک مجدداً به روش بالا خیس و صاف شد. این عمل را آنقدر تکرار نموده تا حلال کاملاً بی‌رنگ شود. عصاره به دست آمده با استفاده از روتاری اواپراتور تحت شرایط خلا و دمای پایین خشک شد(5).

به منظور بررسی آزمایشگاهی از موش‌های کوچک نر بالغ با وزن 25-20 گرم از نژاد NMRI خریداری شده از انستیتو پاستور ایران استفاده شد. موش‌ها در اتاق حیوانات و تحت شرایط کنترل شده نگهداری شدند.

حیوانات به چند گروه تقسیم گردیدند (هر گروه شامل 8 موش بود):

-گروه شاهد: که حلال یعنی نرمال سالین را دریافت می‌کردند.

گروه‌های تجربی که به چند زیر گروه تقسیم شدند:

- زیرگروه دریافت کننده عصاره هیدروالکلی عصاره میوه کرفس با دوز 400 میلی‌گرم بر کیلوگرم (5) و نرمال سالین
- زیرگروه دریافت کننده دارو و نرمال سالین که نالوکسان با دوز 2 میلی‌گرم بر کیلوگرم (20) یا دکسترومتورفان با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم (21) یا L-Name با دوز 10 میلی‌گرم بر کیلوگرم (22)دریافت کردند.

-زیرگروه‌های دریافت کننده توام دارو و عصاره میوه کرفس که خود شامل:

الف- زیرگروه دریافت کننده توام نالوکسان (شرکت تولید دارو،ایران) با دوز 2 میلی‌گرم بر کیلوگرم و عصاره میوه کرفس با دوز 400 میلی‌گرم بر کیلوگرم

ب- زیرگروه دریافت کننده توام دکسترومتورفان (شرکت اکسیر، ایران) با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم و عصاره میوه کرفس با دوز 400 میلی‌گرم بر کیلوگرم

ج- زیرگروه دریافت کننده توام L-Name (شرکت سیگما،آلمان) با دوز 10 میلی‌گرم بر کیلوگرم و عصاره میوه کرفس با دوز 400 میلی‌گرم بر کیلوگرم

همه تزریقات به صورت داخل صفاقی صورت گرفت.

تست فرمالین: 15 دقیقه قبل از شروع آزمایش در هر گروه دوز 400 میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره و به صورت داخل صفاقی تزریق (در گروه شاهد نرمال سالین تزریق گردید) و بلافاصله حیوان برای انطباق با محیط در جعبه شفاف مخصوص تست فرمالین قرار داده شد(حیوانات از یک ربع قبل از تزریق در زیر قیف قرار گرفتند). این جعبه با ابعاد 30×30×30 سانتی‌متر بوده و به منظور مشاهده بهتر حرکات حیوان آینه‌ای با زاویه 45 درجه زیر آن و روبروی مشاهده کننده قرار گرفت. پس از این زمان 0/02 میلی‌لیتر فرمالین 2/5 درصد به زیر پوست کف پای راست حیوان به صورت زیر جلدی تزریق گردید. حیوان مجدداً به داخل جعبه مخصوص تست برگردانده شده و رفتار حیوان به صورت زیر مورد بررسی قرار گرفت. هنگامی که حیوان

وزن خود را به طور مساوی با هر دو پا تحمل می کند نمره صفر، اگر حیوان از پای تزریق شده خود مراقبت کند ولی پا با کف جعبه در تماس باشد نمره 1، اگر پا را جمع کند و آن را بالا نگهدارد نمره 2 و اگر پا را لیسیده، جویده و یا به شدت تکان دهد نمره 3 به آن تعلق می گیرد. مجموعه زمان مربوط به نمره 3 با هم جمع شده و به عنوان زمان لیسیدن (Licking time) (متغیر وابسته) در نظر گرفته شد. میانگین 5 دقیقه ابتدای هر تست به عنوان فاز اول یا درد حاد و میانگین دقایق 20-30 به عنوان فاز دوم یا فاز مزمن تست فرمالین در نظر گرفته شد(6).

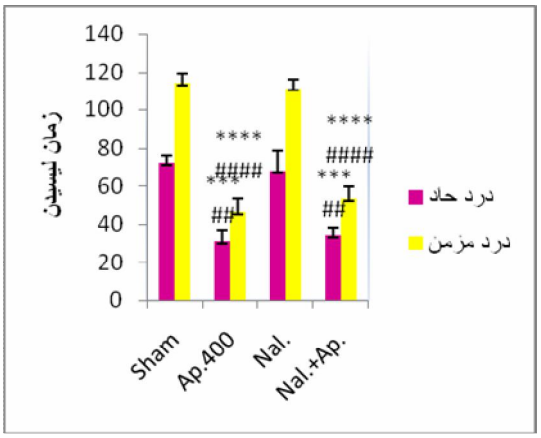
در گروه‌هایی که عصاره و دارو یا نرمال سالین را توام دریافت می‌کردند، دارو نیم ساعت قبل از عصاره و عصاره 15 دقیقه قبل از تست فرمالین تزریق می‌شد. تست فرمالین 15 دقیقه پس از دریافت عصاره صورت می گرفت. در گروه شاهد نیم ساعت و یک ربع قبل از تست، تزریق نرمال سالین صورت گرفت(23).

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS نسخه 13 استفاده شد و به کمک آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و تست توکی بررسی‌های آماری صورت پذیرفت. سطح معنی داری کمتر از 0/05 در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است که مطالعه حاضر در کمیته اخلاق زیستی دانشگاه پیام نور با کد 425/ص/100245 به ثبت رسیده است.

یافته ها

اثر نالوکسان بر بی دردی ناشی از عصاره هیدروالکلی میوه کرفس در تست فرمالین

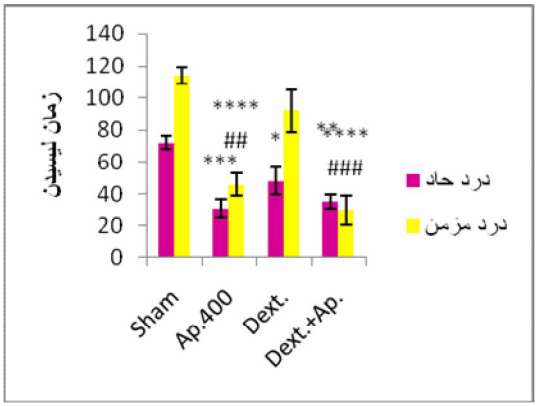
تجویز نالوکسان(Nal) با دوز 2 میلی‌گرم بر کیلوگرم به همراه عصاره اثر معنی‌داری بر بی دردی عصاره در هر دو فاز حاد و مزمن ندارد. از لحاظ آماری گروه دریافت کننده عصاره به تنهایی (Ap) با گروه دریافت کننده توام دارو و عصاره (Nal.+ Ap.) تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند(نمودار1). در هر دو فاز گروه دریافت کننده عصاره و نالوکسان با گروه دریافت کننده دارو به تنهایی(p<0/01 وp<0/0001) و با گروه شاهد (p<0/0001و p<0/001) تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. این مطلب بیان گر آن است که نالوکسان اثری بر بی‌دردی عصاره میوه کرفس ندارد(نمودار1).



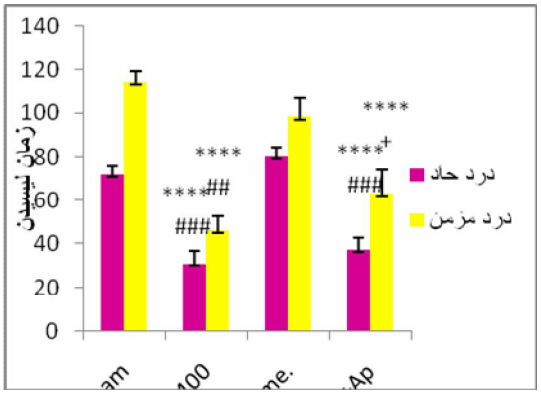
نمودار1. تاثیر تزریق نالوکسان بر میزان بی‌دردی ناشی از تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی میوه کرفس: در درد حاد و مزمن با استفاده از روش تست فرمالین.** و ***: اختلاف با گروه شاهد (p<0/0001) و (p<0/001)## و ####: اختلاف با گروه دریافت کننده دارو به تنهایی (p<0/01) و(p<0/0001)**

اثر دکسترومتورفان بر بی دردی ناشی از عصاره هیدروالکلی میوه کرفس در تست فرمالین

نتایج نشان می‌دهند که دکسترومتورفان (.Dext) با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم بر بی دردی ناشی از عصاره هیدروالکلی میوه کرفس در تست فرمالین در فاز حاد تاثیر دارد. در هر دو فاز بین گروه دریافت کننده دارو و عصاره با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار بود(p<0/0001 و p<0/0 1)و با گروه دریافت کننده عصاره و نرمال سالین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در فاز حاد بین گروه دریافت کننده توام دارو و عصاره (Dext.+Ap.) با گروه دریافت کننده دارو به تنهایی و عصاره به تنهایی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد(p>0/05) (نمودار2). این مطلب نشان می‌دهد که حداقل بخشی از اثرات عصاره از طریق مسیرهای گلوتاماترژیک است.



نمودار2. تاثیر تزریق دکسترومتورفان .Dext بر میزان بی دردی ناشی از تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی میوه کرفس در درد حاد و مزمن با استفاده از روش تست فرمالین.**و ***و **و*: اختلاف با گروه شاهد (p<0/0001) ، (p<0/001) ، (p<0/001) و (p<0/05) ## و###: اختلاف با گروه دریافت کننده دارو به تنهایی (p<0/01) و(p<0/0 01)**



نمودار3. تاثیر تزریق L-Name بر میزان بی‌دردی ناشی از تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی میوه کرفس در درد حاد و مزمن با استفاده از روش تست فرمالین.** : اختلاف با گروه شاهد (p<0/0001)### و ##: اختلاف با گروه دریافت کننده دارو به تنهایی(p<0/ 001) و (p<0/01)+: اختلاف با گروه دریافت کننده عصاره به تنهایی (p<0/05)**

اثر L-NAME بر بی‌دردی ناشی از عصاره هیدروالکلی میوه کرفس در تست فرمالین

در این تحقیق از L-NAME با دوز 10 میلی‌گرم بر کیلوگرم استفاده گردید. در هر دو فاز بین گروه دریافت کننده توام دارو و عصاره (L-name+Ap.) و هم‌چنین عصاره به تنهایی با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار است(p<0/0001). گروه دریافت کننده عصاره و دارو نسبت به گروه دریافت کننده دارو به تنهایی در فاز مزمن تفاوت معنی‌داری نداشت. گروه دریافت کننده عصاره و دارو نسبت به گروه دریافت کننده عصاره به تنهایی تفاوت معنی‌داری را در فاز مزمن نشان می‌دهد(p<0/05). تزریق دارو به همراه عصاره دارای تفاوت معنی‌داری با تزریق دارو به تنهایی در فاز حاد می‌باشد(p<0/001) (نمودار3).

بحث

بر اساس یافته‌های این پژوهش تداخل نالوکسان و عصاره هیدروالکلی میوه کرفس اثر معنی‌داری بر بی‌دردی عصاره در هر دو فاز حاد و مزمن ندارد. تجویز توام دکسترومتورفان، آنتاگونیست گیرنده‌های گلوتاماترژیک، و عصاره میوه کرفس نشان دهنده آن است که در فاز حاد بین گروه دریافت کننده توام دارو و عصاره با گروه دریافت کننده دارو به تنهایی تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود. گروه دریافت کننده عصاره و L-Name نسبت به گروه دریافت کننده دارو به تنهایی در فاز مزمن تفاوت معنی‌داری ندارد.

پژوهش‌های قبلی نشان دهنده خواص ضد التهابی و اثرات حفاظت از معده عصاره میوه کرفس می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهد که تجویز خوراکی عصاره به مدت 28 روز به موش‌های صحرایی ماده و نر فاقد اثرات سمی است(24). ترکیب L-3-n-butylphthalide که از میوه کرفس جدا شده است سبب بهبود شناختی و کاهش بتا آمیلوئید در موش‌های مدل تراژنی بیماری آلزایمر می‌شود(25). عصاره الکلی میوه کرفس فعالیت ضد هلیکوباکترپیلوری را نشان می‌دهدکه به ترکیب فتالید آن نسبت داده شده است(26). عصاره متانولی روغن‌های

ضروری میوه کرفس کوهی، چربی خون را کاهش می‌دهد(27).

در پژوهش حاضر از تست فرمالین استفاده شد. تست فرمالین از دو فاز جدا تشکیل می‌شود، فاز اول شامل اثرات سوزشی و آزار دهنده فرمالین است، در حالی که فاز دوم یک درد التهابی را نشان می‌دهد. جالب است که هر دو فاز به داروهایی که اثرات مرکزی دارند هم‌چون اپیوئیدها حساس هستند. اما فاز دوم علاوه بر داروهای مذکور به NSAID ها و کورتیکواستروئیدها نیز حساس می‌باشد(28). در نتیجه، از طریق داروهای ضد دردی امکان بررسی و شناسایی مکانیزم‌های درد و ضد دردی فراهم می‌شود(29). به علاوه، حساسیت متفاوت به داروها و مسیرهای متفاوت منجر به این خواهد شد که اثرات ضد دردی داروها با هم متفاوت باشد.

در پژوهش‌های قبلی، اثر ضد دردی عصاره هیدروالکلی(5)، آبی و هگزانی میوه کرفس در تست فرمالین مشخص شده است(6). همان طور که در پژوهش قبلی توسط نصری و همکاران (5) مشخص شده است در فاز اول و دوم تست فرمالین دوز 400 میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی میوه موثرترین اثر ضددردی را دارد. جهت تعیین مکانیزم احتمالی ضد دردی عصاره هیدروالکلی میوه کرفس و این که این عصاره با فعال کردن کدام مسیر سبب کاهش درد نوروژنیک و التهابی می‌گردد، عصاره کرفس با داروهای نالوکسان، دکسترومتورفان، L-NAME تداخل داده شد. نالوکسان یک آنتاگونیست غیر اختصاصی گیرنده‌های اپیوئیدی است. هر دو فاز تست فرمالین به داروهایی مانند اپیوئیدها که به صورت مرکزی اثر می‌کنند حساس است، اما فاز دوم تحت تاثیر داروهای ضدالتهابی غیر استروئیدی و کورتیکواستروئیدها می‌باشد(30).

مشخص شده است که تجویز داخل نخاعی آگونیست گیرنده NMDA در رت‌ها سبب هیپرآلژزی در مقابل محرک حرارتی می‌شود. آنتاگونیست‌های مستقیم NMDA و مهار کننده‌های کانال NMDA مانند Dizocipline در مدل‌های حیوانی مربوط به درد نوروپاتیک سبب کاهش هیپرآلژزی می‌شوند. آمینواسیدهای تحریکی شبیه گلوتامات و آسپارتات به عنوان نوروترانسمیترهای حس درد به صورت مرکزی عمل می‌کنند(31). گلوتامات به عنوان یک آمینواسید تحریکی بر گیرنده‌های NMDA نخاعی اثر دارد که نقش محوری را در گسترش درد بازی می‌کنند(32). آوران‌های اولیه نخاع از نوروترانسمیترهای تحریکی نظیر گلوتامات و آسپارتات به عنوان ناقل عصبی استفاده می‌کنند. شواهد نشان می‌دهد که آنتاگونیست‌های انتخابی گیرنده نوروترانسمیترهای تحریکی اثر ضددردی تولید می‌کنند در حالی که آگونیست‌های آنها سبب افزایش درد (Hyperalgesia) می‌شوند(33 ،34).

دکسترومتورفان آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA می‌باشد. اثر این دارو بر بی‌دردی ناشی از عصاره هیدروالکلی میوه کرفس در تست فرمالین، نشان می‌دهد که تداخل آنتاگونیست گیرنده گلوتاماتی و عصاره میوه کرفس در فاز حاد بین گروه دریافت کننده عصاره و دارو با هم نسبت به گروه دریافت کننده دارو به تنهایی و گروه دریافت کننده عصاره به تنهایی تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. این مطلب نشان می‌دهد که احتمالاً یکی از مسیرهای تاثیر ضددردی کرفس در فاز حاد شاید مربوط به گیرنده‌های NMDA باشد. اما در فاز مزمن پیش تیماری با دارو تاثیری بر اثر ضددردی عصاره نداشت.

بررسی فیتوشیمی میوه گیاه کرفس حضور آپی‌ژنین را به عنوان جزء اصلی(35) و linamarose ویتامین A و C را (36) آشکار کرده است. آپی ژنین از ترکیبات فلاونوئیدی است. فلاونوئیدها ترکیبات پلی فنل طبیعی موجود در گیاهان می‌باشند(37) که دارای خواص ضد دردی و ضد التهابی هستند(38). آپی ژنین ترکیب 4′,5,7-trihydroxyflavone است(38).

آپی ژنین پاسخ‌های ناشی از تحریک گیرنده‌های NMDA را در نورون‌های کورتکس در محیط کشت کاهش می‌دهد. آپی ژنین یک عامل حفاظتی در مقابل سمیت القا شده توسط گلوتامات در نورون‌های کورتکس است. بنابراین آپی ژنین اثر آنتاگونیستی بر کانال‌های

NMDA را دارد. با توجه به اثرات آپی ژنین بر شبکه نورونی می‌توان اثرات ضددردی آن را توضیح داد (39). نتایج پژوهش حاضر هم بیان‌گر آن است که حداقل بخشی از خواص ضددردی عصاره در فاز حاد از طریق مسیرهای گلوتاماترژیک می‌باشد.

در پژوهش حاضر تیمار با L-NAME تاثیری بر بی‌دردی ناشی از عصاره هیدروالکلی میوه کرفس در فاز حاد نداشته اما در فاز مزمن L-NAME اثر ضد دردی عصاره را تحت تاثیر قرار داد. البته اثر بی‌دردی ناشی از تجویز توام دارو و عصاره در مقایسه با اثر دارو به تنهایی بر درد و اثر بی‌دردی عصاره به تنهایی در فاز مزمن نشان می‌دهد که حداقل بخشی از اثر عصاره در فاز مزمن از طریق مسیر NO می‌باشد.

L-NAME یک مهار کننده آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز است(40). نتایج این پژوهش با پژوهش‌های دیگر مبنی بر ایجاد درد توسط L-NAME زمانی که به تنهایی تجویز می‌شود، موافقت دارد(41 ،42). گزارش شده که NO در مکانیزم‌های درد یا به عنوان عامل ضد دردی (در غلظت‌های بالا) یا تولید کننده درد (در غلظت پایین) دخیل است(43). این اثرات محیطی هستند ولی نیتریک اکسید یک مکانیزم پیچیده‌تر از انتقال درد و محل‌های تاثیر فوق نخاعی را نشان می‌دهد که مستلزم دو مسیر جداگانه به نام مسیر کیوتروفین-مت-انکفالین (Kyotorphin-met-enkephalin) و مسیر No-cGMP است(44). فعالیت مسیر کیوتروفین-مت-انکفالین خواص ضددردی را سبب می‌شود. در حالی که مسیر No-cGMP سبب پردردی می‌شود(42). یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد که مهار سنتز NO اثر ضددردی عصاره کرفس را تحت تاثیر قرار داده است.

نتیجه گیری

پیش تیماری با دکسترومتورفان سبب کاهش خواص ضددردی عصاره کرفس در فاز حاد شد هم‌چنین پیش تیماری با L-NAME سبب کاهش خواص ضددردی عصاره کرفس در فاز مزمن شد. بنابراین، نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که عصاره هیدروالکلی میوه کرفس از طریق اپیوئیدها عمل نکرده بلکه احتمالاً در فاز حاد از طریق مسیرهای گلوتاماتی و در فاز مزمن از طریق آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز عمل می‌کند. لازم به ذکر است که مسیرهای دیگری نیز در القا اثر ضددردی کرفس موثر می‌باشند که نیاز به پژوهش‌های تکمیلی دارد. جهت تعمیم این مطالعه به انسان نیاز به پژوهش‌های بیشتر است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کلیه مسئولین دانشگاه پیام نور به ویژه دانشگاه پیام نور استان تهران که در تصویب این پژوهش در قالب طرح گرانت با شماره 6399/ع/1002/64 و اجرای این پروژه همکاری نموده‌اند، تشکر می‌نماییم

منابع

1. Zargari A. Iranian Medicinal Plants. 6 ed. Tehran: Tehran University; 1997; 3: 243.[persian]
2. Ghahraman A. Iranian Chormofits. Tehran: Academic Publication Center; 1994;1: 671. [Persian]
3. Chiej R. Encyclopaedia of medicinal plants. MacDonald ISBN 0-356-10541-5. 1984.
4. Launert E. Edible and medicinal plants. Hamlyn: ISBN 0-600-37216-2.1981.
5. Nasri S, Ramezani M, Yasa N. The effect of antinociceptive and anti-inflammatory of hydroalcoholic extract of *Apium graveolens fruit*. Medical sciences of Shahrkord Jour.2008: 25-32. [Persian]
6. Ramezani M, Nasri S, Yasa N. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of isolated fractions from *Apium graveolens*L. Pharmaceutical biology. 2009; 47(118):740-3.
7. Sultana S, Ahmed S, Jahangir T, Sharma S. Inhibitory effect of celery seeds extract on chemically induced hepatocarcinogenesis: modulation of cell proliferation, metabolism and altered hepatic foci development. Cancer letters. 2005; 221(1):11-20.
8. Woods J, Jewell C, O'Brien N. Sedanolide, a natural phthalide from celery seed oil: effect on

hydrogen peroxide and tert-butyl hydroperoxide-induced toxicity in HepG2 and CaCo-2 human cell lines. In Vitro & Molecular Toxicology: A Journal of Basic and Applied Research. 2001; 14(3):233-40.
9. Momin R, Nair M. Antioxidant, cyclooxygenase and topoisomerase inhibitory compounds from Apium graveolens Linn. Seeds. Phytomedicine. 2002;9(4):312-8.
10. Zidorn C, Jöhrer K, Ganzera M, Schubert B, Sigmund EM, Mader J, et al. Polyacetylenes from the Apiaceae vegetables carrot, celery, fennel, parsley, and parsnip and their cytotoxic activities. Journal of agricultural and food chemistry. 2005;53(7):2518-23.
11. Vieths S, Lüttkopf D, Reindl J, Anliker M, Wüthrich B, Ballmer-Weber B. Allergens in celery and zucchini. Allergy. 2002;57:100-5.
12. Green G, Dickenson A. GABA-receptor control of the amplitude and duration of the neuronal responses to formalin in the rat spinal cord. European Journal of Pain. 1997;1(2):95-104.
13. Pir-Nazar A. Investigation of aqueous extract of saffron on tolerance of antinociceptive effect of morphine in male mice. [MSc thesis]. Baqiyatallah University of Medical Sciences. 1998: 10-24. [Persian]
14. Przewlocki R, Przewlocka B. Opioids in chronic pain. European journal of pharmacology. 2001;429(1-3):79-91.
15. Payan D, Katzung B. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs; nonopioid analgesics; drugs used in gout. Basic and clinical pharmacology. 1995:536-59.
16. Gayton A, Hall J. medical physiology: Translated by Niyavarani A.Tehran, Iran. Pub of Samt 1; 2006: 496-500. [Persian]
17. Bleakman D, Alt A, Nisenbaum ES, editors. Glutamate receptors and pain. 2006; 7(5):592-604.
18. Kim A, Kerchner G, Choi D. Blocking excitotoxicity. CNS Neuroprotection (New York: Springer, 2002). 2002:3-36.
19. Griffith OW, Kilbourn RG. Nitric oxide synthase inhibitors: amino acids. Methods in enzymology. 1996; 268: 375-92.
20. Miladi-Gorji H, Rashidipour A, Vafaei A, Taherian A. Role of opioid receptors on antinociceptive effect of the aqueous extract of *Melissa officinalis* in male mice. Hormozgan Medical Journal. 2006; 10(1):28-32. [Persian]
21. Farzin D, Sortji KH. Investigation of opioidergic and dopaminergic effect and mechanism of Dextromethorphan on Writhing in mice. Mazandaran University of Medical Sciences. 2001; 11(33):1-13. [Persian]
22. Homayoun H, Khavandgar S, Dehpour AR. The selective role of nitric oxide in opioid-mediated footshock stress antinociception in mice. Physiology & behavior. 2003;79(4):567-73.
23. Gupta R, Tandon V. Antinociceptive activity of Vitex-negundo Linn leaf extract. Indian Journal of Physiology and Pharmacology. 2005;49(2):163-70.
24. Powanda M, Rainsford K. A toxicological investigation of a celery seed extract having anti-inflammatory activity. Inflammopharmacology. 2011;19(4):227-33.
25. Cheng MC, Ker YB, Yu TH, Lin LY, Peng RY, Peng CH. Chemical Synthesis of 9 (Z)-Octadecenamide and Its Hypolipidemic Effect: A Bioactive Agent Found in the Essential Oil of Mountain Celery Seeds. Journal of agricultural and food chemistry. 2010;58(3):1502-8.
26. Zhou Y, Taylor B, Smith TJ, Liu Z, Clench M, Davies NW, et al. A novel compound from celery seed with a bactericidal effect against Helicobacter pylori. Journal of pharmacy and pharmacology. 2009; 61(8):1067-77.
27. Peng Y, Sun J, Hon S, Nylander AN, Xia W, Feng Y, et al. l-3-n-Butylphthalide Improves Cognitive Impairment and Reduces Amyloid-β in a Transgenic Model of Alzheimer's Disease. The Journal of Neuroscience. 2010; 30(24): 8180-9.
28. Hosseinzadeh H, Ramezani M, Salmani G. Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of Zataria multiflora Boiss extracts in mice and rats. Journal of ethnopharmacology. 2000;73(3):379-85.
29. Gomes PB, Oliveira MMS, Nogueira CRA, Noronha EC, Carneiro LMV, Bezerra JNS, et al. Study of antinociceptive effect of isolated fractions from Petiveria alliacea L.(tipi) in mice. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2005; 28(1): 42-6.
30. Hunskaar S, Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and

non-inflammatory pain. Pain. 1987;30(1):103-14.
31. Singh J, Gupta M. Effect of aspartate and glutamate on nociception, catalepsy and core temperature in rats. Indian Journal of Physiology and Pharmacology. 1997;41(2):123-8.
32. Lutfy K, Cai SX, Woodward RM, Weber E. Antinociceptive effects of NMDA and non-NMDA receptor antagonists in the tail flick test in mice. Pain. 1997;70(1):31-40.
33. Christensen D, Idänpään-Heikkilä JJ, Guilbaud G, Kayser V. The antinociceptive effect of combined systemic administration of morphine and the glycine/NMDA receptor antagonist,(+)-HA966 in a rat model of peripheral neuropathy. British journal of pharmacology. 1998;125(8):1641-50.
34. Näsström J, Karlsson U, Post C. Antinociceptive actions of different classes of excitatory amino acid receptor antagonists in mice. European journal of pharmacology. 1992; 212(1): 21-9.
35. Perry LM, Metzger J. Medicinal Plants of Southeast Asia. MIT Press, Cambridge, MA and London, UK; 1980:413-6.
36. Chakravarty H. Plant wealth of Iraq (a dictionary of economic plants): vol. 1. Baghdad: Ministry of Agriculture & Agrarian Reform xiv, 506p-illus, col illus(Ara) Icones Geog. 1976; 2: 251-2.
37. Balasubramanian S, Zhu L, Eckert RL. Apigenin inhibition of involucrin gene expression is associated with a specific reduction in phosphorylation of protein kinase Cδ Tyr311. Journal of Biological Chemistry. 2006; 281(47): 36162-72.
38. Frutuoso VS, Monteiro MM, Amendoeira FC, Almeida ALF, Nascimento DD, Bérenger ALR, et al. Analgesic and anti-inflammatory activity of the aqueous extract of Rheedia longifolia Planch & Triana. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 2007;102(1):91-6.
39. Losi G, Puia G, Garzon G, de Vuono MC, Baraldi M. Apigenin modulates GABAergic and glutamatergic transmission in cultured cortical neurons. European journal of pharmacology. 2004; 502(1):41-6.
40. Rocha JCS, Peixoto MEB, Jancar S, Cunha FQ, Ribeiro RA, Rocha FAC. Dual effect of nitric oxide in articular inflammatory pain in zymosan-induced arthritis in rats. British journal of pharmacology. 2002; 136(4):588-96.
41. Jain NK, Patil C, Singh A, Kulkarni SK. Sildenafil-induced peripheral analgesia and activation of the nitric oxide-cyclic GMP pathway. Brain research. 2001; 909(1-2):170-8.
42. Zakaria Z, Somchit M, Sulaiman M, Mat Jais A, Fatimah C. Effects of l-Arginine, l-NAME, Methylene Blue, and Their Combinations on Corchorus olitorius. Aqueous Extract Antinociception in Mice. Pharmaceutical biology. 2006; 44(6):430-9.
43. Ferreira SH, Duarte IDG, Lorenzetti BB. The molecular mechanism of action of peripheral morphine analgesia: stimulation of the cGMP sytem via nitric oxide release. European journal of pharmacology. 1991; 201(1): 121-2.
44. Kawabata A, Umeda N, Takagi H. L-arginine exerts a dual role in nociceptive processing in the brain: involvement of the kyotorphin-Met-enkephalin pathway and NO-cyclic GMP pathway. British journal of pharmacology. 1993;109(1):73-9.