

اثر عصاره‌ی هیدرو الکلی گیاه تشنه‌داری (*Scrophularia striata* Boiss.) بر

کاهش درد با استفاده از آزمون فرمالین در موش سوری

بنیامین علی محمدی^۱، رامین محمدی^۲، دکتر صمد ناظمی^۳، دکتر حسن اژداری زرمهری^۴

نویسنده‌ی مسؤل: مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه hasan.azhdari@gmail.com

دریافت: ۹۳/۳/۲۷ پذیرش: ۹۴/۱۱/۱۳

چکیده

زمینه و هدف: در حال حاضر برای تعدیل درد از داروهای شیمیایی متنوعی استفاده می‌شود که هر یک به نوبه ی خود دارای عوارضی هستند. گیاه تشنه‌داری (*Scrophularia striata* Boiss) که در مناطقی از استان ایلام می‌روید سال‌هاست که به صورت تجربی در درمان بیماری‌های مختلف به کار می‌رود با این وجود مطالعه‌ی زیادی روی آن صورت نگرفته است. در این مطالعه اثر عصاره ی هیدروالکلی گیاه تشنه‌داری بر کاهش درد ناشی از آزمون فرمالین مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: ۴۰ موش سوری نر (۳۰ تا ۳۵ گرم به طور تصادفی به ۵ گروه شامل: گروه کنترل (حامل) و گروه‌های عصاره با دوزهای ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰، ۹۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (ip) تقسیم شدند ($n=5$). ۳۰ دقیقه بعد از تجویز عصاره یا حامل، موش‌ها به قفس مخصوص منتقل شدند و شدت رفتارهای درد با استفاده از تزریق ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۲ درصد به پشت پنجه‌ی پا مورد بررسی قرار گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS16، آزمون ANOVA و Tukey استفاده شد ($P<0/05$).

یافته‌ها: در همه‌ی گروه‌های دریافت کننده عصاره رفتارهای درد در فاز اول تست فرمالین نسبت به گروه حامل کاهش معنی‌داری نشان داد، در حالی که در فاز دوم تنها در گروه‌هایی با دوزهای بالای عصاره (۶۰۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) رفتار درد نسبت به گروه حامل کاهش معنی‌دار نشان داد. اگرچه کاهش رفتارهای درد در مرحله‌ی ایترفاز نیز مشاهده شد، اما این تغییر معنی‌دار نبود.

نتیجه گیری: مطالعه‌ی ما نشان داد که عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه تشنه‌داری دارای اثر ضد دردی قوی در تست فرمالین در موش سوری می‌باشد.

واژگان کلیدی: عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه تشنه‌داری، آزمون فرمالین، موش سوری

مقدمه

مفید نباشند. بنابراین نیاز به دستیابی به داروی ضد درد مناسب کماکان وجود داشته و هنوز درهای تحقیق و تفحص در این خصوص به روی محققین باز است (۱). درد عامل هشدار دهنده‌ای است که در صورت احتمال و یا وجود خطر

درد و التهاب یکی از مشکلات اصلی و اساسی همراه با بیماری‌های مختلف در جوامع بشری است. داروهای کنونی در دسترس، شامل مخدرها و ضد التهاب‌های غیراستروئیدی، به دلیل عوارض و سایر مشکلات ممکن است در همه‌ی موارد

۱- کارشناس پرستاری، دانشکده‌ی پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین

۲- کارشناس اتاق عمل، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین

۳- دکترای فیزیولوژی، استادیار مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار

۴- دکترای فیزیولوژی، استادیار مرکز تحقیقات علوم و اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه

می‌باشد که هر فاز نوع متفاوتی از درد را نشان می‌دهد (۱۰ و ۱۱). البته بین فاز ۱ و ۲ مرحله‌ی اینترفاز وجود دارد که برخی آن را به‌عنوان یک مرحله‌ی مهار غیرفعال می‌شناختند و شاید به این دلیل مورد توجه زیاد قرار نگرفته بود در حالی که چندین مطالعه گزارش کرده‌اند که مرحله‌ی اینترفاز به صورت فعال ایجاد می‌شود و به‌طور درون زاد، نتیجه‌ی مکانیسم‌های متوقف کننده درد می‌باشد (۱۲). آزمون فرمالین برای بررسی مکانیسم ایجاد درد و مطالعه‌ی اثر ضد دردی ترکیبات کاربرد فراوانی دارد (۱۳ و ۱۴).

بهترین مدل برای تعیین درد حاد، بدون شک تست فرمالین است. تزریق فرمالین پاسخی دو فازی ایجاد می‌کند: پاسخ اولیه که مرتبط با درد نورونیک بوده، به داروهایی که با سیستم اپیوئیدی میانکنش می‌دهند حساس است و پاسخ ثانویه که مرتبط با پاسخ‌های درد التهابی است و توسط داروهای ضد درد مهار می‌گردد (۱۵). داروهایی که عمدتاً به‌عنوان ضد دردهای مرکزی عمل می‌کنند، قادر به مهار هر دو فاز هستند، در حالی که داروهای دارای عملکرد محیطی، فقط فاز ثانویه را مهار می‌نمایند (۱۶ و ۱۷). با توجه به این ویژگی‌ها در این مطالعه به منظور بررسی اثرات ضد دردی حاد و مزمن عصاره‌ی هیدرو الکلی گیاه تشنه‌داری از آزمون فرمالین در موش سوری استفاده شد.

روش بررسی

حیوانات آزمایشگاهی: در این مطالعه از ۴۰ موش سوری نر با وزن تقریبی ۲۵ تا ۳۰ گرم استفاده شد که از موسسه‌ی رازی حصارک کرج خریداری شدند. حیوانات مورد آزمایش در اتاقی با دمای ۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و دوره‌ی ۱۲ ساعته‌ی تاریکی - روشنایی نگهداری شدند و در طول این مدت به‌طور آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. تمام آزمایشات توسط کمیته‌ی اخلاقی دانشکده‌ی علوم پزشکی قزوین تایید شد. آزمایش‌ها بر اساس راهنمای اخلاقی موسسه‌ی بین المللی

خود را به صورت‌های حاد و یا مزمن نشان می‌دهد و از شایع‌ترین مشکلاتی است که انسان با آن مواجه بوده و همواره در جستجوی راهی برای بررسی علت و دست یابی به روش‌های برطرف نمودن آن بوده است (۲). در حال حاضر برای تسکین و تعدیل درد از داروهای شیمیایی متنوعی استفاده می‌شود که هر یک به نوبه‌ی خود دارای عوارض خاصی هستند. ضرورت استفاده از گیاهان دارویی از یک سو برای جلوگیری از بروز عوارض ناشی از مصرف داروهای شیمیایی معمول می‌باشد، از سوی دیگر کشور ایران بستری مناسب برای کشت و بهره برداری گیاهان دارویی می‌باشد که این به نوبه‌ی خود باعث صرفه جویی اقتصادی می‌شود. گل سازویی یا / سکروفولاریا / استریاتا، با نام محلی تشنه‌داری، گیاهی است خودرو، چند ساله و از تیره‌ی گل میمون که در استان ایلام و مناطقی از استان خوزستان رشد می‌کند (۳). این گیاه توسط کارشناسان دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه چمران اهواز و مرکز تحقیقات کشاورزی جهاد کشاورزی استان خوزستان شناسایی شد (۴). گیاه تشنه‌داری به‌صورت تجربی در درمان بیماری‌های مختلف و از جمله به‌عنوان دارویی آرام بخش و ضد دردی به‌کار رفته است. با این وجود، تاکنون اثرات ضد دردی آن مورد بررسی قرار نگرفته است (۵ و ۶).

آزمون فرمالین دارای پاسخ دو فازی است، فاز اول ناشی از تحریک فیبرهای C بوده و بلافاصله بعد از تزریق فرمالین شروع می‌شود. فاز دوم یا فاز تاخیری که حدود ۲۰ دقیقه بعد شروع می‌شود، درد ملایم است که به وسیله‌ی تغییرات عملکردی و بافتی در شاخ خلفی نخاع ایجاد می‌شود (۷-۹). از آزمون فرمالین در این پژوهش به دلایل زیر استفاده شده است: ۱- آزمون فرمالین تحریک دردناک مناسبی را فراهم می‌کند. ۲- نسبت به مدل‌های درد حاد، تحریک دردناک در آزمون فرمالین به‌طور مداوم می‌باشد و از این جهت می‌تواند مشابه درد کلینیکی باشد. ۳- حیوان آزمایشگاهی استرس کمتری را تجربه می‌کند. ۴- آزمون فرمالین دارای دو فاز

مطالعه‌ی درد انجام شدند. همه‌ی تلاش‌ها در این راستا بود که سطح درد و استرس و نیز تعداد موش‌های مورد استفاده کاهش یابد. موش‌ها به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند و به جز گروه کنترل، به بقیه‌ی موش‌ها عصاره‌ی هیدرو الکلی تشنه‌داری تزریق شد. پس از انجام تمامی آزمایشات بر روی حیوانات، تمامی آن‌ها به ترتیب توسط گاز CO₂ کشته و معدوم شدند.

عصاره گیری: عصاره‌ی آبی - الکلی (هیدروالکلی):

۱۰۰ گرم از پودر گیاه تشنه‌داری در ۵۰۰ سی سی آب مقطر و ۵۰۰ سی سی اتانول ۹۶ درصد ریخته شد و در بالن ۲۰۰۰ سی سی به مدت ۷۲ ساعت در دمای آزمایشگاه (۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد) قرار داده شد. بعد از ۷۲ ساعت محلول را صاف نموده (با کاغذ صافی) و در یک بالن و دارای لوله کوتاه (خروجی) قرار داده و بعد از اینکه محلول صاف گردید، محلول حاصله فیلتر شد سپس در داخل بن ماری (حمام آب جوش در حرارت ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد) قرار گرفت، هنگامی که محلول تغلیظ شد، آن را به داخل پلیت متقل نموده و در انکوباتور در حرارت ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد تا عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه تشنه‌داری خشک شود. میزان عصاره‌ی گرفته شده از ۱۰۰ گرم پودر ۱۱/۵ گرم بود که از پودر حاصل برای تهیه‌ی دوزهای ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم استفاده شد. ضمناً برای تهیه‌ی محلول‌ها از نرمال سالین ۰/۹ درصد استفاده شد. لازم به ذکر است، گیاه تشنه‌داری در فصل بهار و از کوه‌های مناطق غرب کشور (استان ایلام) جمع‌آوری شد. سپس در هرباریوم دانشگاه تهران شناسایی و تایید گردید. یک نمونه از این گیاه نیز به شماره ثبت هرباریومی TUH-۴۲۸۰۱ در این مرکز قرار داده شد (۱۸).

آزمون فرمالین: آزمون فرمالین یک روش ارزشمند و مدل مناسب برای سنجش و ارزیابی درد مداوم و پایدار ناشی از یک محرک شیمیایی می‌باشد و از سوی دیگر می‌توان اثرات

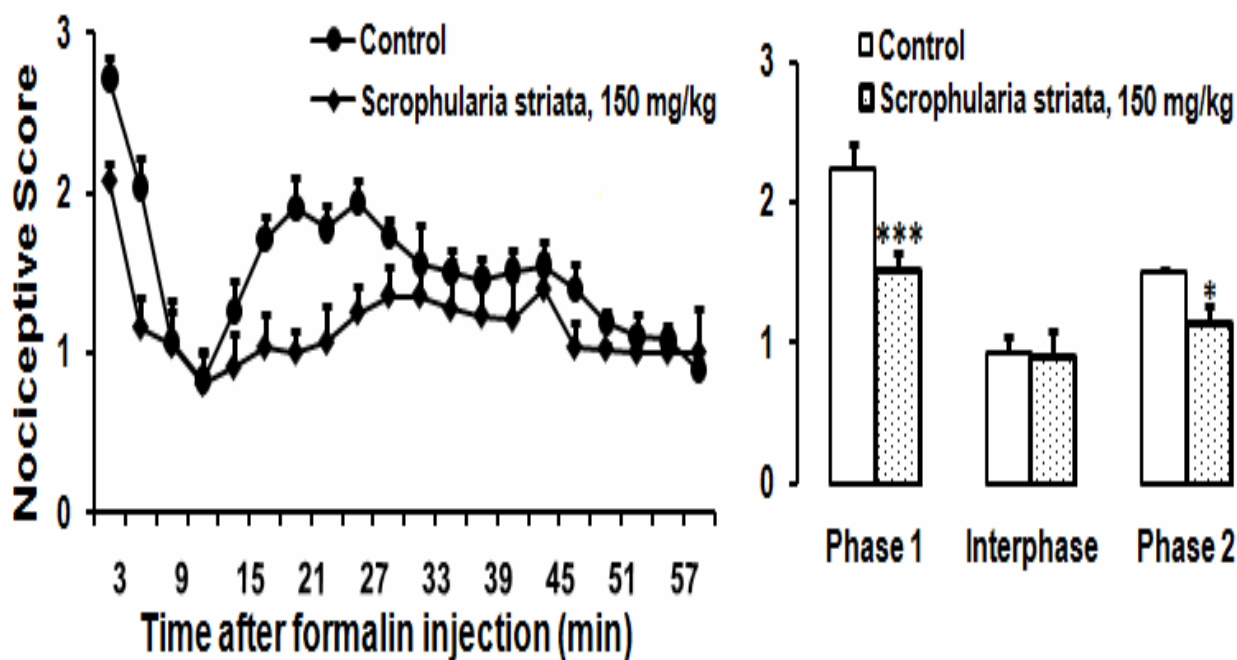
درد حاد را نیز در طی فاز اول این آزمون بررسی کرد. برای این منظور، ۵۰ میکرولیتر محلول فرمالین ۲ درصد به زیر پوست پنجه پای حیوان توسط یک سر سوزن نمره‌ی ۳۰ تزریق شد. به دنبال تزریق فرمالین، حیوان به یک محفظه‌ی شفاف با کف مسطح، به ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ سانتی‌متر از جنس پلاکسی گلاس که در زیر آن محفظه‌ی شفاف آینه‌ای تعبیه شده بود، قرار گرفت و رفتارهای دردی آن ثبت و امتیازدهی شد: نمره‌ی ۰: پای حیوان به طور طبیعی روی زمین قرار داشت، نمره‌ی ۱: پای حیوان مختصری روی زمین قرار داشت، نمره‌ی ۲: پای حیوان از زمین کنده شده بود و نمره‌ی ۳: حیوان پایش را گاز می‌گرفت و یا لیس می‌زد. از لحظه‌ی تزریق فرمالین به مدت ۹۰ دقیقه امتیازهای درد ثبت شد. سپس در هر دقیقه از امتیازها میانگین گرفته شد و پس از آن از هر ۳ دقیقه امتیازها هم میانگین گرفته شد. رفتارهای درد ناشی از تزریق زیر پوستی فرمالین از دو فاز تشکیل شده که توسط اینترفاز از یکدیگر جدا می‌شوند. فاز اول از دقیقه‌ی ۰ تا ۷ و مرحله‌ی اینترفاز از دقیقه‌ی ۸ تا ۱۴ و فاز دوم از دقیقه‌ی ۱۵ تا ۹۰ را شامل می‌شد. جهت مشخص شدن بهتر یافته‌ها، فاز دوم به دو قسمت تقسیم شد: 2A از دقیقه ۱۵ تا ۶۰ و 2B از دقیقه ۶۱ تا ۹۰ می‌باشد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون آماری T.test و ANOVA یک طرفه و در صورت نیاز ANOVA دو طرفه استفاده شد. از آزمون‌های Dunnett و Tukey's استفاده شد. $P < 0.05$ به عنوان معنی‌داری تلقی شد (۱۹ و ۲۰).

یافته‌ها

تزریق فرمالین سبب رفتارهای دردی شد که در بازه‌ی زمانی ۶۰ دقیقه بعد از تزریق فرمالین مشاهده شدند، این رفتارها از دو فاز تشکیل شده که این دو فاز توسط اینترفاز از یکدیگر جدا می‌شوند. فاز اول از دقیقه‌ی ۰ تا ۷ می‌باشد بعد از فاز اول رفتارهای دردی طی مرحله‌ی اینترفاز که از دقیقه‌ی

آزمون فرمالین را نشان می‌دهد که تزریق عصاره‌ی هیدروالکلی تشنه‌داری در دوز ۱۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم سبب کاهش رفتارهای دردی در فاز اول و فاز دوم آزمون فرمالین به‌طور معنی‌داری با گروه کنترل شد و در اینترفاز هم تاثیر معنی‌داری مشاهده نشد ($P < 0.05$) و ($P < 0.001$).

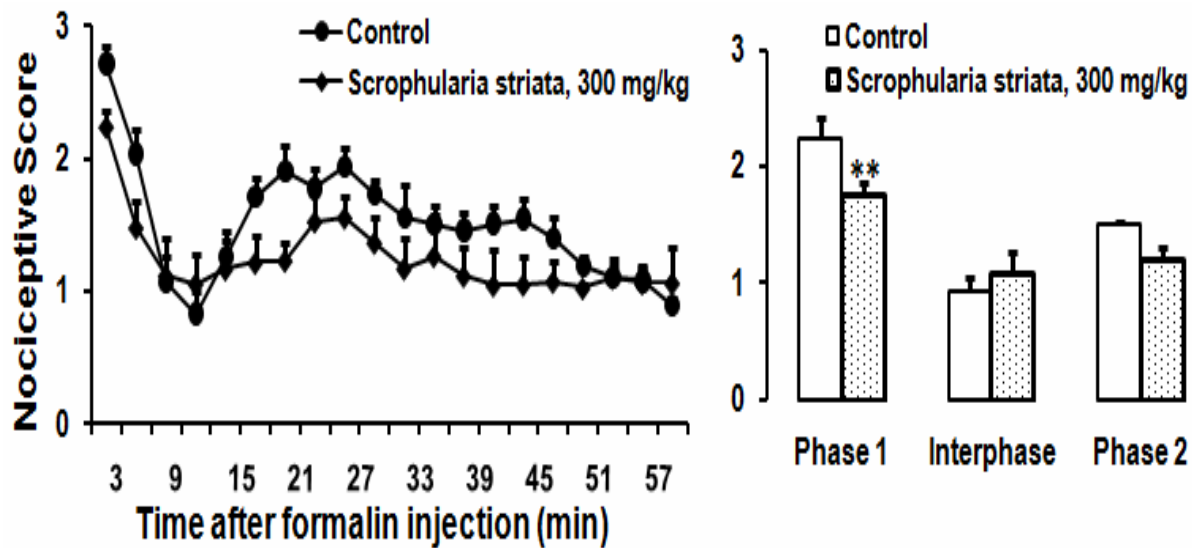
۸ تا ۱۴ می‌باشد کاهش پیدا می‌کنند که در قسمت B شکل ۱ به‌صورت ستونی نشان داده شده است، سپس فاز دوم شروع می‌شود که در این مرحله از دقیقه‌ی ۱۵ تا ۶۰ رفتارهای دردی رتبه‌بندی شد (شکل ۱).
شکل ۱ تزریق عصاره‌ی عصاره‌ی هیدروالکلی تشنه‌داری در دوز ۱۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم روی رفتارهای دردی



شکل ۱: اثر تزریق عصاره‌ی هیدروالکلی تشنه‌داری در دوز ۱۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم بر روی رفتارهای دردی ناشی از تزریق فرمالین برای مدت زمان ۶۰ دقیقه (A) و نمودار ستونی میانگین نمره‌ی آزمون فرمالین در فاز ۱، اینترفاز و فاز ۲ آزمون فرمالین (B).
 $P < 0.001$ *** $P < 0.05$ *

رفتارهای دردی در فاز اول آزمون فرمالین به‌طور معنی‌داری با گروه کنترل شد ($P < 0.001$) و در فاز دوم نیز کاهش رفتارهای دردی مشاهده شد اما معنی‌دار نبود. در اینترفاز هم تاثیر معنی‌داری مشاهده نشد.

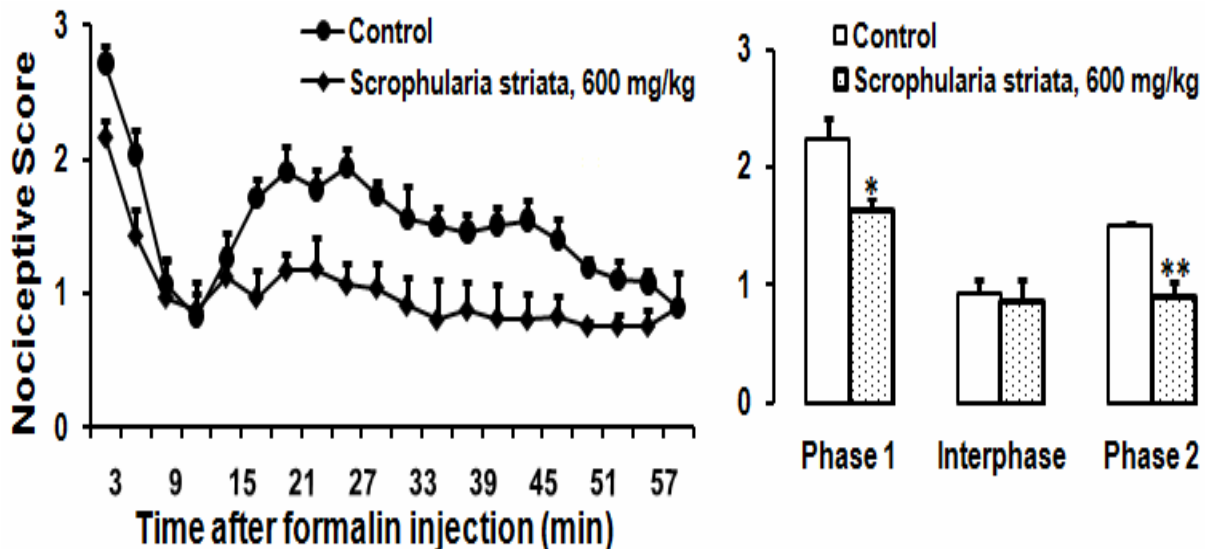
شکل ۲ تزریق عصاره‌ی هیدروالکلی تشنه‌داری در دوز ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم روی رفتارهای دردی آزمون فرمالین را نشان می‌دهد که تزریق عصاره‌ی تشنه‌داری در دوز ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم سبب کاهش



شکل ۲: اثر تزریق عصاره‌ی هیدروالکلی تشنه‌داری در دوز ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم بر روی رفتارهای دردناک ناشی از تزریق فرمالین برای مدت زمان ۶۰ دقیقه (A) و نمودار ستونی میانگین نمره‌ی آزمون فرمالین در فاز ۱، ایتترفاز و فاز ۲ آزمون فرمالین (B). $P < 0.01$ **.

تشنه‌داری در دوز ۶۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم سبب کاهش رفتارهای دردناک در فاز اول و فاز دوم آزمون فرمالین به‌طور معنی‌داری با گروه کنترل شد ($P < 0.05$) و ($P < 0.01$).

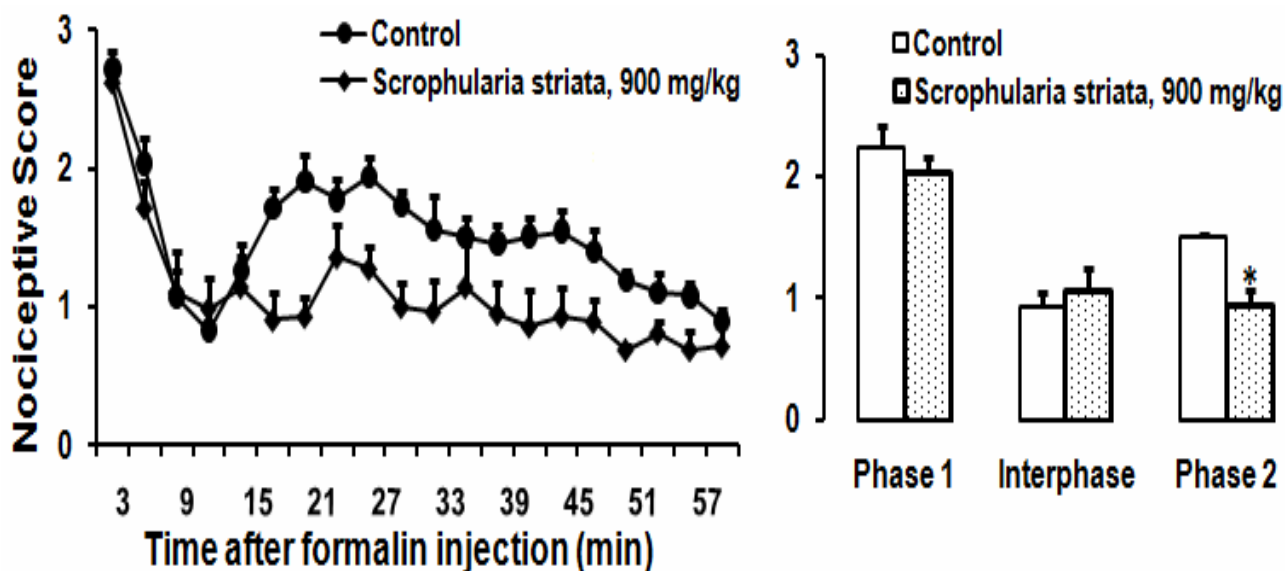
شکل ۳: تزریق عصاره‌ی هیدروالکلی تشنه‌داری در دوز ۶۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم روی رفتارهای دردناک آزمون فرمالین را نشان می‌دهد که تزریق عصاره‌ی هیدروالکلی



شکل ۳: اثر تزریق عصاره‌ی هیدروالکلی تشنه‌داری در دوز ۶۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم بر روی رفتارهای دردناک ناشی از تزریق فرمالین برای مدت زمان ۶۰ دقیقه (A) و نمودار ستونی میانگین نمره‌ی آزمون فرمالین در فاز ۱، ایتترفاز و فاز ۲ آزمون فرمالین (B). $P < 0.05$ * $P < 0.01$ **.

کیلوگرم سبب کاهش رفتارهای دردی در فاز اول و فاز دوم آزمون فرمالین شد به طوری که این کاهش در فاز دوم در مقایسه با گروه کنترل معنی داری می باشد ($P < 0.05$).

شکل ۴: تزریق عصاره‌ی هیدروالکلی تشنه‌داری در دوز ۹۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم روی رفتارهای دردی آزمون فرمالین را نشان می‌دهد که تزریق عصاره‌ی هیدروالکلی تشنه‌داری در دوز ۹۰۰ میلی گرم به ازای هر



شکل ۴: اثر تزریق عصاره‌ی هیدروالکلی تشنه‌داری در دوز ۹۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم بر روی رفتارهای دردی ناشی از تزریق فرمالین برای مدت زمان ۶۰ دقیقه (A) و نمودار ستونی میانگین نمره آزمون فرمالین در فاز ۱، ایترفاز و فاز ۲ آزمون فرمالین (B). $P < 0.05^*$

در حالی که اثر ضد درد بر مرحله ثانویه وابسته به پاسخ‌های التهابی القا شده از طریق آبشار اسید آراشیدونیک است (۲۵-۲۷). داروهایی مانند اپیوئیدها که به صورت مرکزی عمل می‌کنند هر دو فاز را مهار نموده، در حالی که داروهایی که به صورت محیطی عمل می‌کنند مانند ایندومتاسین، تنها فاز مزمن را مهار می‌نمایند. به نظر می‌رسد فاز مزمن یک پاسخ التهابی همراه با درد ناشی از التهاب است که می‌تواند توسط داروهای ضد التهاب مهار شود (۲۸). ترکیبات فلاونوئیدی این گونه گیاهان به علت دارا بودن عوامل محافظت کننده قادر به اعمال اثرات ضد التهابی می‌باشند (۲۹) که از این طریق احتمالاً می‌توانند شدت درد و التهاب را کاهش دهند. تاثیر مستقیم

بحث

به علت وجود ترکیبات ضد درد و ضد التهابی در برخی از گونه‌های گیاه تشنه داری، احتمال وجود این ترکیبات در گیاه مذکور نیز می‌باشد (۲۴-۲۱). بررسی آماری نتایج حاصل از آزمون فرمالین نشان داد که عصاره‌ی هیدروالکلی تشنه‌داری در همه‌ی دوزهای مورد استفاده در این مطالعه سبب کاهش رفتارهای دردی در فاز اول و دوم آزمون فرمالین به طور معنی داری با گروه کنترل شد ($P < 0.01$ ، $P < 0.001$). با تزریق این عصاره، اثر تولید شده در فاز اولیه احتمالاً از طریق اثر مستقیم و فوری بر گیرنده‌های حسی، گیرنده‌های برادی کینین یا از طریق مسیر گلو تاماترژیک است

رادیکال‌های آزاد همراه است که در این راستا فلاونوئیدهای موجود در عصاره‌ی تشنه‌داری با اعمال اثرات آنتی اکسیدانی می‌توانند اثرات ضددردی تشنه‌داری را در این بررسی تا حدودی توجیه نمایند.

نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که عصاره‌ی هیدروالکلی تشنه‌داری دارای خواص ضد درد در تست فرمالین در موش سوری است. پیشنهاد می‌شود از تست‌های دیگر درد و التهاب و فراکسیون‌های مختلف عصاره استفاده گردد. همچنین با تداخل عصاره با آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های موثر بر درد و التهاب می‌توان مسیرهای دقیق تاثیر عصاره تشنه‌داری را مشخص نمود.

References

- 1- Ebrahimzadeh Ma, Mahmoudi M, Saidnia S, Pourmorad F, Salimi E. Assessment of the Antinociceptive effect of the whole extract of *Sambucus* *ebulus*. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2006; 54: 35-42.
- 2- Taherian A, Rashidipour A, Vafaie A, et al. Evaluation the effect of hydroalcoholic extract of *Thymus vulgaris* on acute pain modulation in hot-plate and tail-flick model in mice. *J Semnan Univ Med Sci*. 2003; 5: 13-16.
- 3- Mozafarian VA. Khuzestan flora: Agriculture natural resources research. 1999. Publication Center of Khuzestan Province (Article in Persian). Ref Type: Generic
- 4- Shohani B, Asgharhemmati A, Taherimoghadam M. Assessment the effect of hydroalcoholic extract of *Scrophularia striata* on

فلاونوئیدها بر سنتز پروستاگلاندین‌ها به‌طور قطع مشخص شده است (۳۰). با توجه به شواهد موجود فلاونوئیدها با مهار آنزیم سیکلواکسیژناز تولید پروستاگلاندین‌ها را از اسید آراشیدونیک در پاسخ به محرک‌های التهابی مهار می‌کنند و در نتیجه از حساس شدن گیرنده‌های درد که به وسیله این مولکول‌ها به وجود می‌آید جلوگیری می‌شود و متعاقباً احساس درد را که به همراه این پاسخ‌ها می‌باشد کم می‌کند (۳۱). فلاونوئیدها یکی از مهارکننده‌های آنزیم سنتزکننده نیتریک اکساید (Nitric oxide = NO) به شمار می‌روند و مانع تولید NO می‌شوند که به دنبال تزریق فرمالین افزایش می‌یابد. از آنجا که NO ممکن است میانجی پر درد باشد بنابراین کاهش آن منجر به فعالیت بی‌دردی می‌شود (۳۲). از طرفی فرآیندهای ضد التهابی با افزایش مهار فعالیت

- open skin sore in rabbit. *J Ilam Univ Med Sci* 2009; 4: 9-17.
- 5- Abbott FV, Franklin KB, Westbrook RF. The formalin test: scoring properties of the first and second phases of the pain response in rats. *Pain*. 1995; 1: 91-102.
 - 6- 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*. 1995; 4: 161-74.
 - 7-Coderre TJ, Vaccarino AL, Melzack R. Central nervous system plasticity in the tonic pain response to subcutaneous formalin injection. *Brain Res*. 1990; 535: 155-58.
 - 8- Dickenson AH, Sullivan AF: Evidence for a role of the NMDA receptor in the frequency dependent potentiation of deep rat dorsal horn nociceptive neurones following C fibre

- stimulation. *Neuropharmacol.* 1987; 26: 1235-38.
- 9- Azhdari-Zarmehri H, Semnani S, Fathollahi Y. Comparing the analgesic effects of periaqueductal gray matter injection of orexin A and morphine on formalin- induced nociceptive behaviors. *Physiol-Pharmacol.* 2008; 12: 188-93.
- 10- Abbott FV, Franklin KB, Westbrook RF. The formalin test: scoring properties of the first and second phases of the pain response in rats. *Pain.* 1995; 60: 91-102.
- 11- 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.
- 12- Franklin KB, Abbott FV. Pentobarbital, diazepam, and ethanol abolish the interphase diminution of pain in the formalin test: evidence for pain modulation by GABAA receptors. *Pharmacol Biochem Behav.* 1993; 46: 661-6.
- 13- Azhdari-Zarmehri H, Mohammad-Zadeh M, Feridoni M, Nazeri M: Termination of nociceptive behaviour at the end of phase 2 of formalin test is attributable to endogenous inhibitory mechanisms, but not by opioid receptors activation. *BCN.* 2014; 5: 48-54.
- 14- Ghasemi-Dashkhasan E, Erami E, Elahdadi Salmani M, Azhdari-Zarmehri H. Chronic heterogeneous sequential stress increases formalin-induced nociceptive. *Physiol-Pharmacol.* 2013; 16: 371-9.
- 15- Rosland JH, Tjolsen A, Maehle B, Hole K: The formalin test in mice: effect of formalin concentration. *Pain.* 1999; 4: 235-42.
- 16- Gheibi N, Saroukhani MR, Azhdari-Zarmehri H: The effect of food deprivation on nociception in formalin test and plasma levels of noradrenaline and corticosterone in rats. *BCN.* 2013; 4: 341-47.
- 17- Alimohammadi B, Azhdari-Zarmehri H, Sofiabadi M, Moslem AR. Anticonvulsant effect of hydroalcoholic extract of *Scrophularia Striata Boiss.* on pentylenetetrazol-induced seizure in mice. *J Kerman Univ Med Sci.* 2014; 21: 207-18.
- 18- Shamsizadeh A, Soliemani N, Mohammad-Zadeh M, Azhdari-Zarmehri H: Permanent lesion in rostral ventromedial medulla potentiates swim stress-induced analgesia in formalin test. *Iran J Basic Med Sci.* 2014; 17: 209-15.
- 19- Sofiabadi M, Heidari N, Ghasemi-Dashkhasan E, et al. Assesment of orexin receptor 1 in stress attenuated nociceptive behaviours in formalin test. *Physiol-Pharmacol.* 2011; 15: 395-402.
- 20- Schinella GR, Tournier HA, Prieto JM, Mordujovich de BP, Rios JL. Antioxidant activity of anti-inflammatory plant extracts. *Life Sci.* 2002; 70: 1023-33.
- 21- Li YM, Han ZH, Jiang SH, Jiang Y, Yao SD, Zhu DY. Fast repairing of oxidized OH radical adducts of dAMP and dGMP by phenylpropanoid glycosides from *Scrophularia ningpoensis Hemsl.* *Acta Pharmacol Sin.* 2000; 21: 1125-28.

- 22- Giner RM, Villalba ML, Recio MC, Manez S, Cerda-Nicolas M, Rios J. Anti-inflammatory glycoterpenoids from *Scrophularia auriculata*. *Eur J Pharmacol*. 2000; 389: 243-52.
- 23- Ahmed S, Marotte H, Kwan K, et al. Epigallocatechin-3-gallate inhibits IL-6 synthesis and suppresses transsignaling by enhancing soluble gp130 production. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008; 105: 14692-97.
- 24- 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: 161-74.
- 25- Hunskaar S, Fasmer OB, Hole K: Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. *J Neurosci Methods*. 1985; 14: 69-76.
- 26- de Souza MM, de Jesus RA, Cechinel-Filho V, Schlemper V. Analgesic profile of hydroalcoholic extract obtained from *Marrubium vulgare*. *Phytomedicine*. 1998; 5: 103-107.
- 27- Hunskaar S, Hole K: The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain*. 1987; 30: 103-14.
- 28- Alcaraz MJ, Hoult JR: Actions of flavonoids and the novel anti-inflammatory flavone, hypolaetin-8-glucoside, on prostaglandin biosynthesis and inactivation. *Biochem Pharmacol*. 1985; 34: 2477-82.
- 29- Katzung BG. Basic and clinical pharmacology. 1995. New york.
- 30- Ozek M, Uresin Y, Gungor M: Comparison of the effects of specific and nonspecific inhibition of nitric oxide synthase on morphine analgesia, tolerance and dependence in mice. *Life Sci*. 2003; 72: 1943-51.
- 31- Rezazadeh SH, Zaringhalam J, Manaheji H, Kebryaezadeh A. Anti-inflammatory and hyperalgesic activities of *Stachys athorecalyx* on CFA-induced inflammation. *J Med Plants*. 2009; 3: 68-76.
- 32- Sung H, Nah J, Chun S, Park H, Yang SE, Min WK: In vivo antioxidant effect of green tea. *Eur J Clin Nutr*. 2000; 54: 527-29.

Antinociceptive Effects of Hydro-Alcoholic Extract of *Scrophularia striata* Boiss Using Formalin Test

Alimohammadi B¹, Mohammadi R², Nazemi S³, Azhdari Zarmehri H⁴

¹Dept. of Nursing, Faculty of Nursing, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

²Dept. of Operating Room, Faculty of Paramedical, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

³Cellular and Molecular Research Center, Faculty of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

⁴Nerouscience Research Center, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran

Corresponding Author: Azhdari Zarmehri H, Nerouscience Research, Center Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran

E-mail: hasan.azhdari@gmail.com

Received: 17 Jun 2014 **Accepted:** 2 Feb 2016

Background and Objective: Nowadays, a wide variety of chemical agents are used to mitigate the pain, whereas all of them are associated with complications. *Scrophularia striata* Boiss that grows in the area of Ilam in Iran has been experimentally used in the treatment of various diseases. However, there is a lack of research on this plant. This study was an endeavor to elucidate the effect of hydro-alcoholic extract of *Scrophularia striata* Boiss on formalin-induced pain.

Materials and Methods: In this study, 40 male mice (25-30 g) were randomly selected and divided into five groups of 8 including a control group (receiving saline) along with 4 treatment groups (receiving the extract doses of 150, 300, 600 and 900 mg/kg). 30 minutes after IP administration with saline (in the control group), and different doses of extract (in the treatment groups), animals were immediately transferred to a special cage and after formalin injection in their paw skin, induced pain behaviors were recorded for 60 minutes.

Results: As the dosage of extract increased, significant reductions were seen in phases 1 and 2 in the treatment groups rather than control group. But, there was not any change in interphase. Extract administration with doses of 150, 300, 600 and 900 mg/kg caused significant reduction in nociceptive behaviors in the first phase of formalin test. Also, this decreasing pattern was seen in phase 2 in 600 and 900 mg/kg treatment groups. Despite an evident decrease in nociceptive behaviors in the interphase, it was nonsignificant.

Conclusion: This study illustrates that *Scrophularia striata* Boiss hydroalcoholic extract has analgesic properties on formalin test in mice.

Keywords: *Scrophularia striata* Boiss, Hydroalcoholic extract, Formalin test, Mice