©2016 ASP Ins., *Afarand Scholarly Publishing Institute, Iran*
ISSN: 2252-0805 *Quarterly of the Horizon of Medical Sciences 2016;22(2):151-158*

# Analgesic Effect of Alcoholic Extract of *Morus alba* L. Leaf on Male Rats

## ARTICLE INFO

***Article Type***
Original Research

***Authors***
Mohammadifar M.[1] *BSc,*
Tamtaji O.R.[2] *BSc,*
Behnam M.[2] *BSc,*
Taghizadeh M.[1] *PhD,*
Talae S.A.* *PhD*

**How to cite this article**
Mohammadifar M, Tamtaji O.R, Behnam M, Taghizadeh M, Talae S.A. Analgesic Effect of Alcoholic Extract of Morus alba L. Leaf on Male Rats. Quarterly of the Horizon of Medical Sciences. 2016;22(2):151-158.

*Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
[1]Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
[2]Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

***Correspondence***
*Address*: Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Qotbe Ravandi Boulevard, Kashan, Iran
*Phone*: +983155621157
*Fax*: +983155621157
talaei@kaums.ac.ir

***Article History***
Received: July 20, 2015
Accepted: January 11, 2016
ePublished: March 5, 2016

## ABSTRACT

**Aims** As effective herbal materials, flavonoids and the phenolic compounds are with anti-pain and anti-inflammatory effects. Based on the studies, there is a huge amount of polyphenols and flavonoids in the leaves of *Morus alba* L. Therefore, the aim of this study was to investigate the anti-pain effects of alcoholic extract of the leaves of *Morus alba* L. on the rats.

**Materials & Methods** In the experimental study, 32 male Wistar rats were divided into 4 groups including control group and groups receiving 100, 200, and 400mg/kg alcoholic extract of the leaves of *Morus alba* L. There was 4-week daily extract gavage. The anti-pain effect of the extract was investigated through thermal hyperalgesia, writhing, tail flick, and formalin tests. Data was analyzed by SPSS 16 software using one-way ANOVA and Tukey's post-hoc tests.

**Findings** Daily use of 100, 200, and 400mg/kg of alcoholic extract of the leaves of *Morus alba* L. for 4 weeks led to significant increases in the mean foot withdrawal latency ($p<0.001$) and mean tail withdrawal latency ($p<0.001$) and significant reductions in the percentage of abdominal constriction ($p<0.001$) and pain feeling in both acute ($p<0.05$) and chronic ($p<0.01$) phases of formalin test than control group. Nevertheless, the effect of 200mg/kg dose was higher than the other doses.

**Conclusion** Oral consumption of the alcoholic extract of the leaves of *Morus alba* L. leads to a reduction in pain feeling in the rats. In addition, the anti-pain effect of 200mg/kg dose is higher than other doses.

**Keywords** Analgesics; Morus; Rats

## CITATION LINKS

[1] Pharmacologic therapy for acute ... [2] Opioid-sparing effects of perioperative paracetamol and ... [3] Adverse effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs: an update of gastrointestinal, cardiovascular and ... [4] Evaluation of antinociceptive effect of Aegiceras corniculatum ... [5] Flavonoids with antinociceptive and anti-inflammatory activities from the leaves of Tilia ... [6] Changes in radical-scavenging activity ... [7] Hypolipidemic and antioxidant effects of ... [8] Antioxidative flavonoids from ... [9] Effect of air-drying temperature on antioxidant capacity and stability of polyphenolic compounds in ... [10] The biochemistry and ... [11] Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and ... [12] Cocoa polyphenols and ... [13] Molecular targets of dietary ... [14] Chemical composition of white (Morus alba), red (Morus rubra) and black ... [15] The determination of flavonoid contents ... [16] Oxidative stress in streptozocin-diabetic ... [17] Effects of Morus alba leaf extract on ... [18] Antioxidant properties of various solvent extracts of ... [19] Phytochemical and antioxidant properties of anthocyanin-rich Morus ... [20] Antinociceptive properties of morusin, a prenylflavonoid isolated from Morus nigra ... [21] Antimicrobial and ... [22] Models of nociception: hot-plate, tail-flick, and ... [23] Antinociceptive properties of ethanolic extract and fractions of ... [24] Antinociceptive properties of ethanolic extract and fractions of ... [25] The formalin test: a quantitative study of ... [26] Effect of white mulberry leaves hydro-alcoholic extract on ... [27] Antinociceptive effect of the extract of Morus nigra leaves in ... [28] Inhibition of inducible isoforms of ... [29] Quercetin reduces neutrophil recruitment induced by ... [30] Activation of endothelial nitric oxide synthase by ... [31] Polyphenols, intracellular signalling and ... [32] A role of periaqueductal grey NR2B-containing ... [33] Flavonol glycosides from Costus ... [34] Guava pomace: a new ... [35] Isolation and identification of ... [36] Effect of red clover isoflavones on cox-2 activity in ... [37] Antinociceptive and anti-inflammatory effects of ... [38] Antihyperalgesic activity of ... [39] Antioxidant flavonol glycosides in ... [40] A comparative study on the ... [41] The antioxidant effects of the ... [42] Quercetin: further investigation of ... [43] The effects of dietary flavonoids on the ... [44] Quercetin reduces ... [45] Modulatory role of green ... [46] Antinociceptive effect of ...

*Copyright© 2016 ASP Ins. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms.*

# اثر ضددردی عصاره الکلی برگ توت سفید بر موش‌های صحرایی نر

**مژگان محمدی‌فر BSc**
مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
**امیدرضا تمتاجی BSc**
مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
**محمد بهنام BSc**
مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
**محسن تقی‌زاده PhD**
مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
**سیدعلیرضا طلائی* PhD**
مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

## چکیده

**اهداف:** فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی از جمله مواد موثره گیاهی هستند که اثرات ضددرد و ضدالتهابی آنها ثابت شده است. نتایج مطالعات مختلف نشان داده است که برگ توت حاوی مقادیر قابل توجهی پلی‌فنول و فلاونوئید است. بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر ضددردی عصاره الکلی برگ توت سفید در موش‌های صحرایی انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به چهار گروه ۸تایی (گروه کنترل و گروه‌های دریافت‌کننده عصاره الکلی برگ توت سفید با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم) تقسیم شدند. تجویز عصاره، روزانه به‌مدت ۴ هفته از طریق گاواژ انجام گرفت. اثر ضددردی عصاره توسط آزمون‌های هایپرآلژزیای حرارتی، رایتینگ، غوطه‌ورسازی دم و آزمون فرمالین سنجیده شد. نتایج با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی و توسط نرم‌افزار SPSS 16 مورد تحلیل قرار گرفت.

**یافته‌ها:** دریافت روزانه عصاره الکلی برگ توت سفید با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌مدت ۴ هفته باعث افزایش معنی‌دار میانگین مدت‌زمان عقب‌کشیدن پا ($p<۰/۰۰۱$) و میانگین زمان پس‌کشیدن دم ($p<۰/۰۰۱$) و کاهش معنی‌دار درصد انقباضات شکمی ($p<۰/۰۰۱$) و احساس درد در آزمون فرمالین در هر دو فاز حاد ($p<۰/۰۵$) و مزمن ($p<۰/۰۱$) نسبت به گروه کنترل شد، ولی تاثیر دوز ۲۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به بقیه دوزها بیشتر بود.

**نتیجه‌گیری:** مصرف خوراکی عصاره الکلی برگ توت سفید باعث کاهش احساس درد در موش‌های صحرایی می‌شود که این اثر ضددردی در دوز ۲۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره بیشتر است.

**کلیدواژه‌ها:** ضددرد، برگ توت سفید، موش صحرایی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۴/۲۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۲۱
*نویسنده مسئول: talaei@kaums.ac.ir

## مقدمه

درد از مکانیزم‌های دفاعی بدن است که به‌هنگام آسیب بافتی ایجاد شده و سبب می‌شود فرد نسبت به محرک ایجادکننده درد واکنش نشان دهد. از آنجایی که تداوم درد بر کیفیت زندگی انسان اثرات نامطلوبی می‌گذارد، بشر همواره در پی راهی به‌منظور حذف یا تقلیل آن بوده است. امروزه از ضدالتهاب‌های غیراستروئیدی و مسکن‌های اپیوئیدی به‌عنوان داروی کاهنده (ضد) درد استفاده می‌شود[1]. با وجود استفاده فراوان از این داروها نمی‌توان از عوارض نامطلوب آنها چشم‌پوشی کرد. مساله مهم در استفاده از اپیوئیدها ایجاد تحمل و وابستگی به دارو است[2]. مصرف ضدالتهاب‌های غیراستروئیدی نیز منجر به ایجاد عوارض زیادی همچون اختلال کلیوی، زخم‌های گوارشی و خونریزی می‌شود[3]. با توجه به عوارض جانبی نامطلوب این داروها، محققان در پی جایگزینی این داروها با داروهای دارای عوارض جانبی کمتر و اثر ضددردی بیشتر هستند. عوارض کمتر داروهای گیاهی و نیز تنوع در مواد موثره گیاهان سبب شده این داروها مورد توجه قرار گیرند[4, 5].

توت سفید با نام علمی *موروس آلبا* (*Morus alba L.*) درختی است از خانواده موراسه که در مناطق وسیعی از جهان از جمله ایران رشد می‌کند. استفاده درمانی از این گیاه در طب سنتی چین به‌عنوان تب‌بر، کاهنده فشار خون و تقویت‌کننده کبد رایج بوده است. قسمت‌های مختلف این گیاه از جمله میوه[6]، برگ و پوست ریشه[7] دارای کاربرد درمانی هستند. توت سفید دارای اثرات ضداسپاسمی و ضدروماتیسمی بوده و برای درمان دردهای مفصلی استفاده می‌شود[6].

نتایج آنالیز کروماتوگرافی مایع پرفشار (HPLC) برگ توت نشان داده است که برگ این گیاه حاوی مقادیر قابل توجهی پلی‌فنول و فلاونوئید است[8, 9]. فلاونوئیدها و ترکیب‌های فنولی از جمله مواد موثره گیاهی هستند که اثرات ضددرد و ضدالتهابی آنها ثابت شده است[10, 11]. فلاونوئیدها می‌توانند با مهار میانجی‌های التهابی از جمله پروستاگلاندین‌ها و نیتریک‌اکساید اثر ضددردی خود را اعمال کنند. اثرات ضددردی و ضدالتهابی گیاهانی چون بابونه و کاکائو را به وجود ترکیب‌های فنولی در آنها نسبت داده‌اند[12]. این ترکیبات عمدتاً از طریق مهار آنزیم‌های سیکلواکسیژناز و نیتریک‌اکسایدسنتاز عمل کرده و در تسکین درد ناشی از التهاب موثر هستند[13].

اثرات آنتی‌اکسیدانی برگ توت در مطالعات مختلفی نشان داده شده است[14, 15]. *آندالو* و همکاران نشان داده‌اند که فلاونوئیدهای موجود در برگ توت سفید می‌توانند در بهبود استرس اکسایشی در موش‌های صحرایی دیابتی موثر باشند[16]. به‌علاوه، بیان شده است که عصاره برگ توت سفید دارای اثرات مهارکنندگی نیتریک‌اکساید و پروستاگلاندین E2 است[17]. مطالعات انجام‌شده بر گیاهان خانواده توت نشان داده است که سایر اعضای این خانواده نیز دارای اثرات ضدالتهابی و ضددردی هستند[18]. توت قرمز و سیاه در بهبود

استرس اکسایشی موثر بوده و نقش آنتی‌اکسیدانی دارند[19]. موروسین موجود در توت سیاه موجب کاهش درد در موش‌های آزمایشگاهی شده است[20].

با توجه به خواص درمانی برگ توت و نیز اثرات نامطلوب داروهای نارکوتیک و ضدالتهاب‌های غیراستروئیدی، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر ضددردی عصاره الکلی برگ توت سفید در موش‌های صحرایی انجام شد.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی از ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به‌وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰گرم استفاده شد. موش‌ها به‌طور تصادفی به گروه‌های کنترل و دریافت‌کننده عصاره برگ توت با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تقسیم شدند (چهار گروه ۸تایی). عصاره الکلی برگ توت به‌مدت ۴ هفته و هر روز راس ساعت ۱۰ صبح به‌صورت گاواژ تجویز شد. طی این مدت به گروه کنترل به‌منظور درنظرگرفتن استرس گاواژ آب مقطر داده شد. موش‌ها در طول مدت مطالعه با دسترسی آزاد به آب و غذا و در شرایط دمایی مناسب (۲۲±۲°C) نگه‌داری شدند. میزان رطوبت اتاق نگه‌داری از حیوانات ۴۰ تا ۵۰٪ بود. دوره شبانه‌روزی موش‌ها به‌صورت ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی تنظیم شد. تمامی دستورات اخلاقی مصوب کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان در مورد کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد.

**تهیه عصاره الکلی برگ توت سفید:** مقدار ۲۰کیلوگرم برگ توت سفید واریته دانه‌دار از شهر کاشان تهیه شده و پس از تایید گونه و واریته آن توسط کارشناس کشاورزی مرکز تحقیقات گیاهان دارویی شرکت باریج اسانس، آسیاب شد. عصاره‌گیری به‌روش پرکولاسیون با اتانول۷۰٪ انجام شد. ترکیب حلال با پودر گیاه به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق انکوبه شد. سپس با استفاده از کاغذ صافی به‌میزان ۱ به ۱ حجمی عصاره گرفته شد. عصاره به‌دست‌آمده در داخل گرم‌خانه ۴۰°C و دارای سیستم تهویه قرار داده شد تا غلظت ماده خشک آن افزایش یابد. به‌منظور تعیین میزان ماده خشک، رطوبت نمونه عصاره‌ها تعیین شد[21]. برای گاواژکردن، عصاره خشک به‌میزان لازم در آب مقطر حل شده و مورد استفاده قرار می‌گرفت.

**آنالیز عصاره:** برای آنالیز عصاره، مقدار فلاونوئیدهای تام براساس کوئرستین و مقدار ترکیبات فنولیک تام براساس گالیک‌اسید به‌صورت زیر تعیین شد:

تعیین مقدار فلاونوئیدهای تام براساس کوئرستین: ابتدا برای رسم منحنی کالیبراسیون کوئرستین در واکنش با معرف آلومینیوم‌کلراید، ۵میلی‌گرم کوئرستین استاندارد توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱میلی‌گرم توزین شد. پس از حل‌کردن کوئرستین در اتانول ۸۰درجه در یک بالن حجمی ۱۰میلی‌لیتری به حجم رسانده شد (۵۰۰میکروگرم در میلی‌لیتر). از محلول فوق توسط پیپت مقادیر ۱، ۱/۵ و ۲میلی‌لیتر برداشته و به بالن‌های حجمی ۱۰میلی‌لیتری منتقل و با اتانول ۸۰درجه به حجم رسانده شد تا غلظت‌های ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آید. از هر یک از محلول‌های اخیر با پیپت حجمی مقدار ۰/۵میلی‌لیتر برداشته و به بالن حجمی ۵میلی‌لیتری انتقال داده شد. سپس به آن ۲میلی‌لیتر اتانول ۸۰درجه اضافه شد. به‌دنبال آن، به هر یک از بالن‌ها مقدار ۰/۱میلی‌لیتر محلول آلومینیوم‌کلراید۱۰٪ (وزنی/وزنی) و ۰/۱میلی‌لیتر محلول پتاسیم‌استات یک‌مولار اضافه شده و با اتانول۸۰٪ به حجم رسانده شد. پس از ۳۰ دقیقه، جذب محلول‌ها در طول موج ۴۱۵نانومتر در برابر محلول شاهد ثبت شد (محلول شاهد شامل کلیه اجزا به‌جز محلول نمونه است که همزمان با بقیه تهیه می‌شود). این آزمایش برای هر غلظت سه بار تکرار شد و میانگین جذب هر غلظت برای رسم منحنی کالیبراسیون به‌کار برده شد. در نهایت برای تعیین مقدار فلاونوئید تام در نمونه، مقدار مشخصی از نمونه درون یک بالن رفلاکس ۵۰میلی‌لیتری توزین شد. سپس به آن ۸میلی‌لیتر اتانول ۸۰درجه اضافه شد و به‌مدت یک ساعت رفلاکس شد. پس از سردشدن مخلوط به‌وسیله کاغذ صافی واتمن نمره ۴۰ به داخل یک بالن حجمی ۱۰میلی‌لیتری صاف شد. محتویات بالن و صافی با مقدار کافی از اتانول ۸۰درجه شسته و در نهایت محلول مورد نظر به حجم رسانده شد. ۰/۵میلی‌لیتر از این محلول توسط پیپت به بالن حجمی ۵میلی‌لیتری منتقل شد و مشابه روش ذکرشده برای رسم منحنی کالیبراسیون با معرف آلومینیوم‌کلراید۱۰٪ واکنش داده شد. این آزمایش شش مرتبه تکرار شد و میانگین جذب محلول‌ها در ۴۱۵نانومتر به‌دست آمد.

تعیین مقدار ترکیبات فنولیک تام براساس گالیک‌اسید: برای رسم منحنی کالیبراسیون گالیک‌اسید، مقدار ۵/۵میلی‌گرم از گالیک‌اسید استاندارد با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱میلی‌گرم توزین شد و پس از حل‌کردن در مقداری آب در یک بالن حجمی ۱۰میلی‌لیتری، به حجم رسانده شد (۵۵۰میکروگرم در میلی‌لیتر). از محلول فوق با پیپت مقادیر ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵میلی‌لیتر برداشته و به بالن‌های حجمی ۵میلی‌لیتری منتقل شد و سپس با آب به حجم رسانده شد. بدین ترتیب محلول‌های استاندارد از گالیک‌اسید با غلظت‌های ۵۵، ۱۱۰، ۱۶۵، ۲۲۰ و ۲۷۵میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. ۰/۲میلی‌لیتر از هر یک از محلول‌های استاندارد فوق توسط پیپت به بالن‌های حجمی ۵میلی‌لیتری منتقل شد. سپس به هر کدام از بالن‌ها ۲میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۲۵میلی‌لیتر معرف فولین اضافه و سپس تکان داده شد. پس از گذشت ۲ دقیقه به هر یک از بالن‌ها، ۰/۵میلی‌لیتر محلول سدیم‌کربنات۲۰٪ (حجمی/وزنی) افزوده شد و در نهایت با آب مقطر به حجم رسانده شد. محلول شاهد نیز به‌طور همزمان و به‌طریق مشابه بدون افزودن محلول نمونه به آن تهیه

شد. پس از گذشت ۲ ساعت از به‌حجم‌رساندن محلول‌ها، جذب آنها در طول موج ۷۶۰نانومتر در برابر محلول شاهد ثبت شد. این آزمایش برای هر غلظت سه مرتبه تکرار و میانگین جذب برای هر غلظت محاسبه شد و سپس منحنی کالیبراسیون رسم شد. در نهایت به‌منظور تعیین مقدار ترکیبات فنولیک تام در نمونه، مقدار مشخصی از نمونه درون یک بالن رفلاکس ۵۰میلی‌لیتری توزین شد و با اتانول ۸۰درجه به حجم رسانده شد. ۰/۲میلی‌لیتر از محلول اخیر توسط پیپت حجمی به بالن ژوژه ۵میلی‌لیتری منتقل و مشابه روش ذکرشده برای رسم منحنی کالیبراسیون گالیک‌اسید با معرف فولین واکنش داده شد. میزان جذب محلول پس از ۲ ساعت در طول موج ۷۶۰نانومتر در برابر محلول شاهد ثبت شد

**آزمون‌ها:** ۴ هفته بعد از شروع گاواژ، برای بررسی اثر ضددردی عصاره الکلی برگ توت سفید، از آزمون‌های زیر استفاده شد:

آزمون هایپرآلژزیای حرارتی: در این آزمایش با استفاده از دستگاه رادیان حرارتی (Ugo Bassil؛ ایتالیا) با تاباندن اشعه مادون قرمز به کف پای سالم حیوان میزان تحمل حیوان به حرارت مورد ارزیابی قرار گرفت. حرارت تولیدشده توسط اشعه ۵۲–۵۵°C بود. حیوانات درون محفظه‌های پلکسی‌گلاس قرار داده شده و اشعه مادون قرمز از میان سطح پلکسی‌گلاس به بخش میانی کف پای حیوان تابانده شد. معیار تحمل محرک حرارتی، مدت‌زمان تاخیر در عقب‌کشیدن پا بود. این آزمون برای هر حیوان سه مرتبه و هر بار به‌فاصله ۵ تا ۱۰ دقیقه تکرار شد و نقطه برش آزمایش ۲۲ ثانیه بود[22].

آزمون غوطه‌ورسازی دم: در این آزمون حیوانات درون مقیدکننده قرار داده شدند و پس از سازگاری، دم آنها درون آب ۴۹°C وارد شد. مدت‌زمانی که طول کشید تا موش دم خود را به بالا حرکت دهد ثبت شد. این آزمون برای هر حیوان ۴ بار و در زمان‌های صفر، ۲، ۴ و ۶ دقیقه تکرار شد. در صورتی که حیوان طی ۳۰ ثانیه دم خود را تکان نمی‌داد برای جلوگیری از آسیب دم، حیوان تا ۲ دقیقه بعد کنار گذاشته می‌شد[23].

آزمون رایتینگ: برای بررسی درد احشایی از این آزمون استفاده شد. در این آزمون تعداد انقباضات شکمی حیوان پس از تزریق استیک‌اسید۰/۶٪ به‌مدت ۳۰ دقیقه شمارش شد. استیک‌اسید برای تمام گروه‌ها با دوز ۱۰میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن حیوان و به‌صورت داخل‌صفاقی تزریق شد. انقباضات شکمی یا کشیدن حداقل یکی از اندام‌های حرکتی خلفی به‌عنوان یک رایت در نظر گرفته شد[24].

آزمون فرمالین: این آزمون، آزمایشی به‌منظور ارزیابی درد حاد و مزمن است. برای انجام مطالعه از روش *دابیسون* و *دنیس* استفاده شد[25]. برای انجام آزمون فرمالین حیوانات درون محفظه‌هایی با کف شیشه‌ای قرار گرفتند که روی یک چهارپایه آلومینیومی قرار داشت. برای آسان‌ترشدن مشاهدات یک آینه با زاویه ۴۵درجه درون چهارپایه قرار داده شد. حیوان ۳۰ دقیقه پیش از شروع هر آزمایش به اتاقک منتقل شد تا به محیط جدید عادت کند. پس از طی این زمان با استفاده از سرنگ انسولین میزان ۵۰میکرولیتر فرمالین۲/۵٪ به زیر پوست کف پای چپ حیوان تزریق شد. ویژگی مهم آزمون فرمالین ایجاد درد در دو مرحله است که یک مرحله کوتاه و اولیه بلافاصله بعد از تزریق (دقایق صفر تا ۱۵) و یک مرحله ثانویه و طولانی‌تر (دقایق ۲۰ تا ۵۰) است. درد در فاز اولیه ناشی از تحریک گیرنده‌های درد (درد نورولوژیک) بوده و درد مزمن به‌دنبال آسیب بافتی ناشی از تزریق فرمالین و التهاب ایجاد می‌شود (درد التهابی).

بعد از تزریق، حیوان با احتیاط به جایگاه ویژه بازگردانده شده و رفتارهای ناشی از تزریق فرمالین به‌مدت یک ساعت بررسی شد. رفتارهای ناشی از درد به‌صورت قراردادی به‌شرح زیر امتیازدهی شد:

صفر: حیوان کف پای تزریق‌شده را روی زمین گذاشته و هیچ علامتی مبنی بر احساس درد نشان نداد.

یک: حیوان کف پای تزریق‌شده یا نوک انگشتان خود را با احتیاط روی زمین گذاشته، اما وزن خود را روی آن قرار نداد.

دو: حیوان کاملاً پای تزریق‌شده را از زمین بلند کرده و بدون هیچ تماسی به زمین نزدیک بدن خود قرار داد.

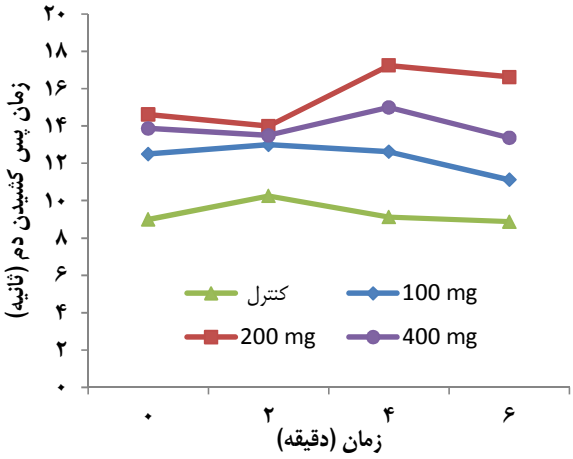
سه: حیوان علاوه بر بالاآوردن پای تزریق‌شده، شروع به تکان‌دادن، لیسیدن یا گازگرفتن آن کرد.

**آنالیز آماری:** پس از جمع‌آوری داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف، از نرمال‌بودن آنها اطمینان حاصل شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و برای مقایسه دوبه‌دوی گروه‌ها از پس‌آزمون توکی استفاده شد. تمامی آزمون‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 انجام شد.

## یافته‌ها

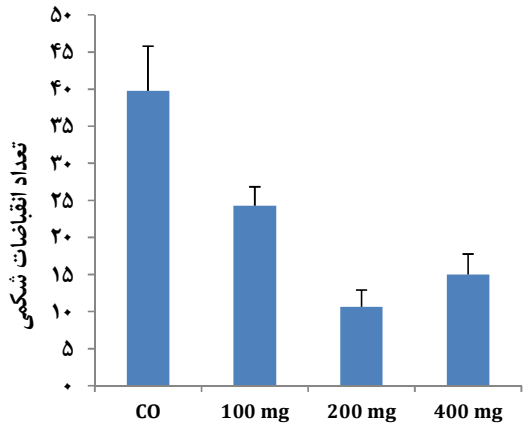
میانگین مدت‌زمان تاخیر در عقب‌کشیدن پا در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p<0/0001$). به‌عبارت دیگر، دریافت عصاره الکلی برگ توت، تحمل درد ناشی از حرارت را بهبود بخشید. میانگین زمان تاخیر در عقب‌کشیدن پا برای گروه کنترل ۹/۵±۰/۴۲ ثانیه بود و دریافت عصاره با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰میلی‌گرم به ترتیب این زمان را به ۱۵/۳۳±۰/۸۶، ۱۷/۷۵±۰/۳۹ و ۱۶/۱۷±۰/۶۱ ثانیه افزایش داد ($p<0/001$).

میانگین زمان پس‌کشیدن دم بین گروه‌های مطالعه دارای اختلاف معنی‌داری بود ($p<0/0001$). اختلاف میانگین زمان پس‌کشیدن دم در گروه دریافت‌کننده دوز ۱۰۰میلی‌گرم عصاره ($p<0/05$) و در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰میلی‌گرم عصاره ($p<0/001$) نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود (نمودار ۱).



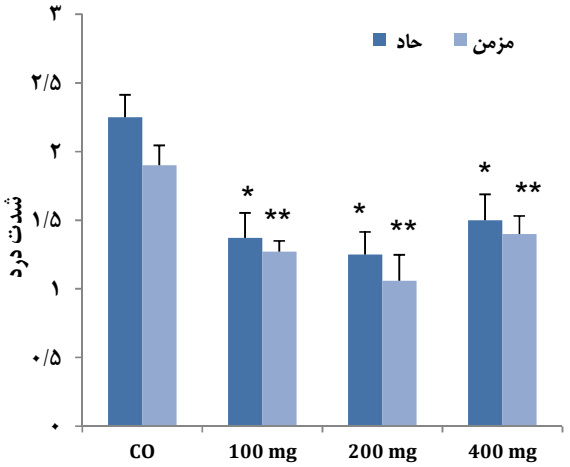

**نمودار ۱)** تاثیر دریافت دوزهای مختلف عصاره الکلی برگ توت سفید بر درد ناشی از غوطه‌ورسازی دم در آب داغ

میزان کشیدگی و انقباضات شکمی در موش‌های دریافت‌کننده عصاره برگ توت کاهش یافت (p<۰/۰۰۰۱). در واقع موش‌های دریافت‌کننده عصاره درد کمتری را احساس کردند. کاهش درصد انقباضات نسبت به گروه کنترل برای گروه گیرنده دوز ۱۰۰میلی‌گرم عصاره برابر ۳۸/۹٪ (p<۰/۰۵) و برای گروه‌های دریافت‌کننده ۲۰۰ و ۴۰۰میلی‌گرم عصاره به ترتیب ۷۳/۲٪ و ۶۲/۲٪ (p<۰/۰۰۱) بود. حداکثر اثر ضددردی در تجویز دوز ۲۰۰میلی‌گرم عصاره مشاهده شد (نمودار ۲).




**نمودار ۲)** تاثیر دریافت دوزهای مختلف عصاره الکلی برگ توت سفید بر درد ناشی از تزریق استیک‌اسید در آزمون رایتینگ (همه گروه‌ها در سطح ۰/۰۰۱ با گروه کنترل اختلاف معنی‌دار داشتند)

دریافت عصاره الکلی برگ توت باعث کاهش معنی‌داری در احساس درد ناشی از تزریق فرمالین در هر دو فاز حاد (دقایق صفر تا ۱۵) و مزمن (دقایق ۲۰ تا ۵۰) آزمون شد (p<۰/۰۰۰۱). در فاز اول آزمون فرمالین، بروز رفتارهای نشان‌دهنده درد در گروه‌های گیرنده دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره نسبت به گروه کنترل به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت (p<۰/۰۵)، ولی اختلاف معنی‌داری در تاثیر ضددردی دوزهای مختلف عصاره مشاهده نشد (p>۰/۰۵). در فاز مزمن نیز مصرف عصاره سبب کاهش احساس درد در تمام گروه‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره نسبت به گروه کنترل شد (p<۰/۰۱)، اگر چه اختلاف بین سه دوز عصاره معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵؛ نمودار ۳).




**نمودار ۳)** تاثیر دریافت دوزهای مختلف عصاره الکلی برگ توت سفید بر درد حاد و مزمن (التهاب) ناشی از تزریق فرمالین (*p<۰/۰۵ بین گروه کنترل با گروه‌های دریافت‌کننده عصاره در فاز حاد؛ **p<۰/۰۱ بین گروه کنترل با گروه‌های دریافت‌کننده عصاره در فاز مزمن)

## بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که عصاره الکلی برگ توت سفید می‌تواند شدت درد را در آزمون‌های هایپرآلژزیای حرارتی، غوطه‌ورسازی دم، رایتینگ و فرمالین کاهش دهد.

اگر چه اثرات آنتی‌اکسیدانی برگ توت در برخی پژوهش‌ها نشان داده شده است[8, 16]، اما براساس بررسی‌های صورت‌گرفته توسط ما تاکنون پژوهشی به‌منظور بررسی اثر ضددردی برگ توت سفید انجام نگرفته است. نشان داده شده است که عصاره هیدروالکلی برگ توت سفید می‌تواند از التهاب ناشی از تزریق کاراجینان در موش‌های صحرایی جلوگیری کند[26]. مطالعات انجام‌شده روی بعضی دیگر از گیاهان این خانواده حاکی از اثر ضددرد و ضدالتهابی این گیاهان است. گیاه شاه‌توت با نام علمی *موروس نیگرا* (*Morus nigra L.*) اثرات ضددرد و ضدالتهابی قابل توجهی دارد. در مطالعه‌ای بیان شده است که دوز ۳۰۰میلی‌گرم عصاره برگ شاه‌توت در کاهش درد ناشی از آزمون‌های رایتینگ و صفحه داغ حتی نسبت به مورفین (۱۰میلی‌گرم بر کیلوگرم) و ایندومتاسین (۵میلی‌گرم بر کیلوگرم) بهتر عمل می‌کند. این اثر ضددرد را به ترکیبات فنولی شاه‌توت و اثر آنتی‌اکسیدانی آن نسبت می‌دهند[27].

از نظر فیزیولوژیک، درد حاد (نوروژنیک) ناشی از تحریک گیرنده‌های عصبی محیطی بوده و درد مزمن ناشی از آزادسازی

میانجی‌های التهابی از جمله پروستاگلاندین‌ها است. در مطالعه حاضر عصاره برگ توت سفید توانست هر دو نوع درد را کاهش دهد. نیتریک‌اکساید و پروستاگلاندین‌ها از جمله میانجی‌های مهم التهابی هستند که مهار آنزیم‌های سیکلواکسیژناز و نیتریک‌اکسایدسنتاز سبب کاهش مقادیر نیتریک‌اکساید و پروستاگلاندین‌ها و در نهایت کاهش التهاب و درد می‌شود[28, 29]. پروستاگلاندین‌ها توسط آنزیم سیکلواکسیژناز ساخته شده و با اثر بر گیرنده‌های مرتبط با Gپروتئین‌ها باعث ایجاد درد می‌شوند. ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها می‌توانند باعث کاهش فعالیت و بیان آنزیم‌های سیکلواکسیژناز و نیتریک‌اکسایدسنتاز شده و از این طریق اثرات ضددردی خود را اعمال کنند[30, 31]. نشان داده شده است که فلاونوئیدها با تاثیر بر گیرنده‌های N-متیل-D-آسپارتات (NMDA) سبب کاهش کلسیم درون‌سلولی و به‌دنبال آن مهار فعالیت آنزیم‌های وابسته به کلسیم، نیتریک‌اکسایدسنتاز و فسفولیپاز A2 می‌شوند[32]. پروستاگلاندین E افزایش تحریک‌پذیری عصبی و حساس‌شدن گیرنده‌های درد را سبب می‌شود. مهار پروستاگلاندین E موجب تحریک کمتر گیرنده‌های درد می‌شود. در مطالعه *چویی* و *هوانگ* ثابت شده است که برگ توت سفید می‌تواند نیتریک‌اکساید و پروستاگلاندین E را مهار کند[17].

برگ توت سفید دارای مقادیر بالای ترکیبات فنولی و فلاونوئید است[9]. فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی از ترکیبات موثر گیاهی هستند که اثر آنتی‌اکسیدانی آنها ثابت شده است[33]. مطالعات انجام‌شده روی ترکیبات گیاهی دارای فلاونوئید و مواد فنولی نشان داده است که این ترکیبات می‌توانند اثر ضددرد و ضدالتهابی چشمگیری داشته باشند[34, 35]. برای مثال ثابت شده است اثر ضددردی گیاه شبدر قرمز به‌دلیل وجود مقادیر بالای ترکیبات فنولی در آن است[36]، یا اثرات ضددردی زعفران را به فلاونوئیدهای موجود در آن نسبت می‌دهند. در مطالعه *حسین‌زاده* و *یونسی* نشان داده شده است که عصاره زعفران دارای اثر ضددردی است. در این مطالعه مشخص شده است که زعفران از طریق مهار التهاب موجب کاهش درد شده و از طریق سیستم اعصاب مرکزی (مشابه اپیوئیدها) عمل نمی‌کند. زعفران در آزمون پلانتار که بررسی‌کننده درد حاد و وابسته به سیستم اعصاب مرکزی است، تاثیر معنی‌داری بر شدت درد نگذاشته و موجب کاهش درد نمی‌شود[37].

فلاونوئید غالب در برگ توت کلرژنیک‌اسید است[38]. برگ توت همچنین دارای روتین و به‌میزان کمتری کوئرستین، ایزوکوئرستین و آستراگالین است[39, 40]. اثرات ضددردی کلرژنیک‌اسید، روتین و کوئرستین در مطالعات مختلف ثابت شده است[41, 42]. کلرژنیک‌اسید می‌تواند واسطه‌های التهابی از جمله نیتریک‌اکساید و TNF-α (فاکتور نکروزدهنده تومور- آلفا) را مهار کند[32]. کوئرستین با کاهش فعالیت و بیان آنزیم‌های سنتزکننده نیتریک‌اکساید و سیکلواکسیژناز موجب کاهش پردردی ناشی از التهاب می‌شود[43]. مشخص شده است کوئرستین موجود در چای سبز در آزمون رایتینگ اثر ضددردی خوبی از خود نشان داده است[44]. همچنین عصاره چای سبز سبب کاهش درد در آزمون‌های فرمالین و پس‌کشیدن دم در موش‌های صحرایی شده است[45]. در مطالعه دیگری روی چای سبز نشان داده شده است که عصاره هیدروالکلی این گیاه می‌تواند سبب کاهش درد مزمن در آزمون فرمالین شود، اگر چه این عصاره بر درد ناشی از آزمون صفحه داغ و فاز حاد آزمون فرمالین تاثیری نداشت[46].

از محدودیت‌های این مطالعه استفاده از یک داروی ضددرد شیمیایی استاندارد مثل مورفین یا ضدالتهاب‌های غیراستروئیدی بود که می‌توانست مقایسه نتایج حاصل از اثرات ضددردی عصاره با آن اطلاعات دقیق‌تری حاصل نماید. لازم به ذکر است که به‌منظور تعیین مکانیزم اثر ضددردی توت سفید پژوهش‌های بیشتری نیاز است. توصیه می‌شود با استفاده از داروهای مهارکننده مسیرهای ایجاد درد، برای مثال داروهای مهارکننده آنزیم سیکلواکسیژناز یا نالوکسان برای مهار عملکرد شبه‌اپیوئیدی، به بررسی اثر ضددردی عصاره الکلی برگ توت پرداخته شود.

## نتیجه‌گیری

مصرف خوراکی عصاره الکلی برگ توت سفید باعث کاهش احساس درد در موش‌های صحرایی می‌شود که این اثر ضددردی در دوز ۲۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره بیشتر است.

**تشکر و قدردانی:** مقاله حاضر حاصل بخشی از نتایج طرح پژوهشی شماره ۹۳۱۷۱ مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان است. لذا بدین وسیله از آن معاونت تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید.

**تاییدیه اخلاقی:** تمامی دستورات اخلاقی مصوب کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان در مورد کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد.

**تعارض منافع:** موردی توسط نویسندگان بیان نشده است.

**منابع مالی:** این مقاله، بخشی از نتایج طرح پژوهشی شماره ۹۳۱۷۱ مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان است.

## منابع

1- Blondell RD, Azadfard M, Wisniewski AM. Pharmacologic therapy for acute pain. Am Fam Physician. 2013;87(11):766-72.

2- Wong I, St John-Green C, Walker SM. Opioid-sparing effects of perioperative paracetamol and nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in children. Paediatr Anaesth. 2013;23(6):475-95.

3- Harirforoosh S, Asghar W, Jamali F. Adverse effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs: an update of

spinosa Extracts. Jundishapur J Nat Pharm Prod. 2014;9(3):e13859.
22- Bannon AW, Malmberg AB. Models of nociception: hot-plate, tail-flick, and formalin tests in rodents. Curr Protoc Neurosci; 2007.
23- Abbott FV, Melzack R, Samuel C. Morphine analgesia in the tail-flick and formalin pain tests is mediated by different neural systems. Exp Neurol. 1982;75(3):644-51.
24- Coelho LP, Reis PA, de Castro FL, Gayer CRM, Lopes CdS, Silva MCdCe, et al. Antinociceptive properties of ethanolic extract and fractions of Pterodon pubescens Benth. seeds. J Ethnopharmacol. 2005;98(1-2):109-16.
25- 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(2):161-74.
26- Arzi A, Rezaei M, Aghel N, Nouri Mombeyni S. Effect of white mulberry leaves hydro-alcoholic extract on carrageenan-induced inflammation in male rat's hind paw. Jundishapur Sci Med J. 2009;8(2):149-56. [Persian]
27- de Mesquita Padilha M, Vilela FC, da Silva MJ, dos Santos MH, Alves-da-Silva G, Giusti-Paiva A. Antinociceptive effect of the extract of Morus nigra leaves in mice. J Med Food. 2009;12(6):1381-5.
28- Sakata K, Hirose Y, Qiao Z, Tanaka T, Mori H. Inhibition of inducible isoforms of cyclooxygenase and nitric oxide synthase by flavonoid hesperidin in mouse macrophage cell line. Cancer Lett. 2003;199(2):139-45.
29- Souto FO, Zarpelon AC, Staurengo-Ferrari L, Fattori V, Casagrande R, Fonseca MJ, et al. Quercetin reduces neutrophil recruitment induced by CXCL8, LTB4, and fMLP: inhibition of actin polymerization. J Nat Prod. 2011;74(2):113-8.
30- Mann GE, Rowlands DJ, Li FY, de Winter P, Siow RC. Activation of endothelial nitric oxide synthase by dietary isoflavones: Role of NO in Nrf2-mediated antioxidant gene expression. Cardiovasc Res. 2007;75(2):261-74.
31- Santangelo C, Vari R, Scazzocchio B, Di Benedetto R, Filesi C, Masella R. Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. Ann Ist Super Sanita. 2007;43(4):394-405.
32- Hu J, Wang Z, Guo Y-Y, Zhang X-N, Xu Z-H, Liu S-B, et al. A role of periaqueductal grey NR2B-containing NMDA receptor in mediating persistent inflammatory pain. Mol Pain. 2009;5:71-6.
33- da Silva BP, Bernardo RR, Parente JP. Flavonol glycosides from Costus spicatus. Phytochem. 2000;53(1):87-92.
34- Denny C, Melo PS, Franchin M, Massarioli AP, Bergamaschi KB, de Alencar SM, et al. Guava pomace: a new source of anti-inflammatory and analgesic bioactives. BMC. 2013;13:235.
35- Krogh R, Kroth R, Berti C, Madeira AO, Souza MM, Cechinel-Filho V, et al. Isolation and identification of compounds with antinociceptive action from Ipomoea pes-caprae (L.) R. Br. Pharm. 1999;54(6):464-6.
36- Lam AN, Demasi M, James MJ, Husband AJ, Walker C. Effect of red clover isoflavones on cox-2 activity in murine and human monocyte/macrophage cells. Nutr Cancer. 2004;49(1):89-93.
37- Hosseinzadeh H, Younesi HM. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of Crocus sativus L. stigma and petal extracts in mice. BMC Pharmacol. 2002;2:7.
38- Bagdas D, Cinkilic N, Ozboluk HY, Ozyigit MO, Gurun MS. Antihyperalgesic activity of chlorogenic acid in experimental neuropathic pain. J Nat Med. 2013;67(4):698-704.
gastrointestinal, cardiovascular and renal complications. J Pharm Pharm Sci. 2013;16(5):821-47.
4- Roome T, Dar A, Naqvi S, Choudhary MI. Evaluation of antinociceptive effect of Aegiceras corniculatum stems extracts and its possible mechanism of action in rodents. J Ethnopharmacol. 2011;135(2):351-8.
5- Toker G, Küpeli E, Memisoğlu M, Yesilada E. Flavonoids with antinociceptive and anti-inflammatory activities from the leaves of Tilia argentea (silver linden). J Ethnopharmacol. 2004;95(2-3):393-7.
6- Oki T, Kobayashi M, Nakamura T, Okuyama A, Masuda M, Shiratsuchi H, et al. Changes in radical-scavenging activity and components of mulberry fruit during maturation. J Food Sci. 2006;71(1):C18-22.
7- El-Beshbishy HA, Singab AN, Sinkkonen J, Pihlaja K. Hypolipidemic and antioxidant effects of Morus alba L. (Egyptian mulberry) root bark fractions supplementation in cholesterol-fed rats. Life Sci. 2006;78(23):2724-33.
8- Kim SY, Gao JJ, Lee WC, Ryu KS, Lee KR, Kim YC. Antioxidative flavonoids from the leaves of Morus alba. Arch Pharm Res. 1999;22(1):81-5.
9- Katsube T, Tsurunaga Y, Sugiyama M, Furuno T, Yamasaki Y. Effect of air-drying temperature on antioxidant capacity and stability of polyphenolic compounds in mulberry (Morus alba L.) leaves. Food Chem. 2009;113(4):964-9.
10- Havsteen BH. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacol Ther. 2002;96(2-3):67-202.
11- Pandey KB, Rizvi SI. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. Oxid Med Cell Longev. 2009;2(5):270-8.
12- Sies H, Schewe T, Heiss C, Kelm M. Cocoa polyphenols and inflammatory mediators. Am J Clin Nutr. 2005;81(Suppl 1):304S-12s.
13- Yoon JH, Baek SJ. Molecular targets of dietary polyphenols with anti-inflammatory properties. Yonsei Med J. 2005;46(5):585-96.
14- Ercisli S, Orhan E. Chemical composition of white (Morus alba), red (Morus rubra) and black (Morus nigra) mulberry fruits. Food Chem. 2007;103(4):1380-4.
15- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem. 1999;64(4):555-9.
16- Andallu B, Kumar AV, Varadacharyulu NC. Oxidative stress in streptozocin-diabetic rats: Amelioration by mulberry (Morus Indica L.) leaves. Chin J Integr Med. 2012;1:1-6.
17- Choi EM, Hwang JK. Effects of Morus alba leaf extract on the production of nitric oxide, prostaglandin E2 and cytokines in RAW264.7 macrophages. Fitoterapia. 2005;76(7-8):608-13.
18- Arabshahi-Delouee S, Urooj A. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (Morus indica L.) leaves. Food Chem. 2007;102(4):1233-40.
19- Özgena M, Serçeb S, Kayac C. Phytochemical and antioxidant properties of anthocyanin-rich Morus nigra and Morus rubra fruits. Sci Hortic. 2009;119(3):275-9.
20- de Souza MM, Bittar M, Cechinel-Filho V, Yunes RA, Messana I, Delle Monache F, et al. Antinociceptive properties of morusin, a prenylflavonoid isolated from Morus nigra root bark. Z Naturforsch C. 2000;55(3-4):256-60.
21- Mahboubi M, Taghizadeh M, Kazempour N. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Pycnocycla

39- Katsube T, Imawaka N, Kawano Y, Yamazaki Y, Shiwaku K, Yamane Y. Antioxidant flavonol glycosides in mulberry (Morus alba L.) leaves isolated based on LDL antioxidant activity. Food Chem. 2006;97(1):25-31.
40- Khan MA, Rahman AA, Islam S, Khandokhar P, Parvin S, Islam MB, et al. A comparative study on the antioxidant activity of methanolic extracts from different parts of Morus alba L. (Moraceae). BMC Res Notes. 2013;6(1):24.
41- Azevedo MI, Pereira AF, Nogueira RB, Rolim FE, Brito GA, Wong DV, et al. The antioxidant effects of the flavonoids rutin and quercetin inhibit oxaliplatin-induced chronic painful peripheral neuropathy. Mol Pain. 2013;9:53.
42- Filho AW, Filho VC, Olinger L, de Souza MM. Quercetin: further investigation of its antinociceptive properties and mechanisms of action. Arch Pharm Res. 2008;31(6):713-21.
43- Izzi V, Masuelli L, Tresoldi I, Sacchetti P, Modesti A, Galvano F, et al. The effects of dietary flavonoids on the regulation of redox inflammatory networks. Front Biosci (Landmark Ed). 2012;17:2396-418.
44- Valerio DA, Georgetti SR, Magro DA, Casagrande R, Cunha TM, Vicentini FT, et al. Quercetin reduces inflammatory pain: inhibition of oxidative stress and cytokine production. J Nat Prod. 2009;72(11):1975-9.
45- Singal A, Anjaneyulu M, Chopra K. Modulatory role of green tea extract on antinociceptive effect of morphine in diabetic mice. J Med Food. 2005;8(3):386-91.
46- Ahmadian-Baghbadorani N, Azhdari-Zarmehri H, Puzesh S, Mousavi FS, Rajaei F. Antinociceptive effect of hydroalcoholic extract of green tea in male mice. Feyz. 2014;17(6):528-36. [Persian]