

بررسی اثرات ضد دردی، ضد التهابی و سمیت حاد اسانس گیاه مارچوبه ایرانی در موش سوری نر

علیرضا فلاح‌زاده^۱ (Ph.D)، سعید محمدی^{۲*} (Ph.D)

۱- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

۲- گروه زیست‌شناسی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۴/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۱۴

smiauhphd.sm@gmail.com

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۸۱-۳۲۵۱۸۰۶۴

چکیده

هدف: مارچوبه ایرانی در طب سنتی ایران در درمان دردهای رماتیسمی و التهاب استفاده می‌شود. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات ضد دردی، ضد التهابی و سمیت حاد اسانس ریشه گیاه مارچوبه ایرانی در موش سوری نر بود. مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی از موش‌های سوری نر استفاده شد. در آزمایش بررسی درد (شامل تست رایتینگ، تیل‌فلیک و فرمالین)، حیوانات به ۶ گروه کنترل-حلال (ترکیبی از توئین ۸۰ + آب مقطر)، گروه‌های تیمار شده با اسانس (۴۰۰، ۲۰۰ و ۱۰۰ mg/kg و به صورت گاواژ یا دهانی)، مورفین (درون صفاقی) و نیز نالوکسان (درون صفاقی) به همراه دوز ۴۰۰ mg/kg اسانس تقسیم شدند. در آزمایش بررسی التهاب (تست‌های گزین و کاراگینان)، حیوانات به ۵ گروه کنترل، اسانس (دهانی) و دگزامتازون (درون صفاقی) تقسیم شدند. در تست سمیت حاد، حیوانات به ۶ گروه تقسیم شده بودند. یافته‌ها: دوز ۴۰۰ mg/kg اسانس در تست‌های رایتینگ و تیل‌فلیک اثر ضد دردی معنی‌داری ($P < 0.01$) را نشان داد. همچنین در تست التهاب با اسفاده از گزین، دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg اسانس میزان التهاب گوش موش‌ها را به میزان معین داری نسبت به گروه کنترل کاهش داد. در تست بررسی سمیت، اثر سمیت حاد اسانس گیاه دیده نشد. نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که اسانس ریشه گیاه مارچوبه ایرانی در موش‌های سوری نر دارای اثرات ضد دردی و ضد التهابی و فاقد سمیت است.

واژه‌های کلیدی: عوامل ضد التهاب، داروهای ضد درد، گیاه مارچوبه، سمیت

مقدمه

درد به عنوان مجموعه‌ای پیچیده از تجارب ناخوشایند حسی، عاطفی و شناختی حاصله از آسیب بافتی و تظاهرات واکنش‌های اتونومیک، سایکولوژیک و رفتاری تعریف شده است [۱]. همچنین التهاب از جمله عوارض شایع بسیاری از بیماری‌هاست که موجب تضعیف سیستم ایمنی بدن و تاخیر در بهبود بیماری‌ها می‌گردد [۲]. فرایندهای التهابی وابستگی شدیدی با درد دارند چنان‌چه مواد شیمیایی آزاد شده در طی فرایند التهاب، نظیر برادی‌کینین، پروستاگلاندین‌ها می‌توانند گیرنده‌های درد را بیش‌تر تحریک کرده و منجر به درد التهابی شوند [۳]. از آن‌جا که حدود ۸۰٪ از مردم جهان در کشورهای در حال توسعه زندگی می‌کنند و به دلیل گران بودن داروهای سنتتیک گرایش بیش‌تری نسبت به گیاهان دارویی وجود دارد [۴].

گیاه دارویی مارچوبه ایرانی با نام علمی *Asparagus persicus* از خانواده آسپاراژاسه (Asparagaceae) می‌باشد [۵]. این گیاه، گیاهی علفی، چند ساله و دویایه است که ارزش غذایی، دارویی و صنعتی بسیار بالایی دارد. در طب سنتی ایران از ریشه‌های این گیاه به عنوان ترکیبی مخدر استفاده می‌شده و در موارد رماتیسم، میگرن و التهاب‌های شدید مصرف می‌شده است. همچنین این گیاه دارای اثرات ضد سرطانی و ضد اکسیدانی است و نیز تقویت‌کننده قوای جنسی می‌باشد [۶]. در مطالعاتی بر روی این گیاه مشخص شد که اسانس آبی ریشه آن می‌تواند سبب تحریک ترشح هورمون‌های لوتئینی و پروژسترون شود [۷].

ترکیبات عمده اسانس مارچوبه عبارت‌اند از: ساپونین A، سارساساپوژنین، پروتودیوسین، دیوسژنین و فلاوونوئیدهای کوئرستین، روتین، کامفرول، ایزورامنتین [۸،۵]. این مواد شیمیایی از فرآیندهای التهابی در بیماری‌های خودایمنی

جلوگیری می‌کنند و نیز تعدادی از آن‌ها اثرات ضد دردی دارند هم‌چنین مارچوبه حاوی ویتامین C، بتاکاروتن، ویتامین E، روی، منیزیم و سلنیوم می‌باشد [۹].

امروزه در مطالعات مختلفی اثرات ضد دردی و ضد التهابی ریشه گیاهان هم خانواده گیاه مارچوبه نظیر: *Asparagus officinalis*، *Asparagus pubescens* در موش‌های سوری به اثبات رسیده‌اند. از سویی در این مطالعات، استفاده از گیاهان هم‌خانواده گیاه مارچوبه سمیت‌های حاد مختلف و ضد و نقیضی را از خود نشان داده‌اند [۱۰، ۱۱].

با توجه به ترکیبات شیمیایی گیاه مارچوبه نظیر فلاونوئیدها و سابونین‌ها و نیز با توجه به اثبات اثرات ضد دردی و ضد التهابی گیاهان هم‌خانواده این گیاه هنوز سمیت حاد، اثرات ضد دردی و ضد التهابی گیاه مارچوبه با استفاده از تست‌های تجربی آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار نگرفته است، لذا در مطالعه حاضر سمیت حاد، اثرات ضد دردی (با استفاده از تست‌های تیل فلیک، فرمالین و رایتینگ) و اثرات ضد التهابی (تست گزین و کاراگینان) گیاه مارچوبه بر روی موش‌های سوری نر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی اسانس. در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی، ریشه‌های گیاه مارچوبه ایرانی در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۸ از دامنه کوه الوند همدان تهیه و سپس توسط گیاه‌شناس دانشگاه بوعلی سینا همدان مورد تایید قرار گرفت (شماره هرباریم: ۱۲۶۳۰). سپس ریشه‌ها از گیاه جدا شده و در دمای اتاق (۲۵ درجه) و در سایه خشک گردیدند. اسانس‌گیری گیاه با استفاده از روش تقطیر با آب و به کارگیری دستگاه کلونجر انجام پذیرفت [۱۲، ۱۳].

حیوانات. موش‌های سوری نر (۲۰-۳۰ گرم) از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند و در شرایط استاندارد اتاق حیوانات تحت دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی: ۱۲ ساعت تاریکی (شروع دوره روشنایی از ساعت ۷:۰۰ صبح)، شرایط دمایی 22 ± 1 درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. حیوانات با دسترسی آزاد به آب و غذای مخصوص در قفس‌های فلزی نگهداری می‌شدند. حیوانات حداقل ۲ ساعت قبل از انجام آزمایش به شرایط آزمایشگاه عادت داده شدند. آزمایش مورد نظر بین ساعات ۸:۰۰ صبح تا ۱۲:۰۰ ظهر انجام شد. آزمایشات بر طبق دستورالعمل‌های اخلاقی انجمن بین‌المللی مطالعه درد و نیز کمیته اخلاقی دانشگاه علوم و تحقیقات تهران (کد اخلاق به شماره: ۱۳۹۸، ۱۷۲) در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام شد [۱۴].

گروه‌بندی حیوانات و نحوه تیمار. در تست‌های ارزیابی‌کننده درد (فرمالین، رایتینگ و تیل فلیک)، حیوانات به ۶ گروه ۶ تایی (۳۶ سر موش) شامل: گروه کنترل یا حلال (ترکیبی از توئین ۸۰ (۲٪) و آب مقطر)، گروه تحت اثر مورفین (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و به صورت تزریق درون صفاقی، آگونیست غیر اختصاصی سیستم اپیوئیدی)، گروه‌های تیمار شده با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسانس گیاه مارچوبه (به صورت تزریق دهانی یا گاوژ) و گروه تیمار شده با نالوکسان (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و به صورت تزریق درون صفاقی، آنتاگونیست غیر اختصاصی سیستم اپیوئیدی) به همراه دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسانس تقسیم شدند. در تست‌های التهابی گزین و کاراگینان نیز حیوانات به ۵ گروه ۶ تایی (۶۰ سر موش یعنی ۳۰ سر جهت تست گزین و ۳۰ سر جهت تست کاراگینان) شامل: گروه کنترل یا حلال (ترکیبی از توئین ۸۰ (۲٪) و آب مقطر) اسانس (۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و به صورت تزریق دهانی یا گاوژ) و دگزامتازون (دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و به صورت تزریق درون صفاقی) تقسیم شدند.

در تست سمیت حاد نیز طبق مطالعه قبلی انجام شده موش‌ها به ۶ گروه ۶ تایی (۳۶ سر) شامل: گروه‌های اسانس با دوزهای ۱۰، ۱۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۶۰۰، ۲۹۰۰ و ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تقسیم شده بودند [۱۵]. لازم به ذکر است که دوزهای مورد استفاده در این آزمایش با توجه به مقالات قبلی [۱۶، ۱۷] و نیز بر اساس تست سمیت حاد انجام شده در پژوهش حاضر تعیین گردید. بنابراین استفاده از دوزهای مذکور کاملاً ایمن بود. هم‌چنین، قبل از گاوژ دهانی، موش‌ها ابتدا حدود ۳۰ دقیقاً توسط پژوهشگر مهار و لمس (handling) می‌شدند. به منظور گاوژ دهانی از لوله‌های polypropylene مدل FTPU-16-38 استفاده شد. بعد از اتصال لوله‌های پلی‌پروپیلن به سرنگ اسانس از طریق دهان حیوان وارد محفظه معده می‌شد. چنانچه ابتدا لوله گاوژ درون دهان حیوان به سمت راست یا چپ جا به جا شده و توسط حیوان به سمت داخل معده کشیده می‌شد. هرگونه مقاومتی توسط حیوان باعث می‌شد که پژوهشگر لوله را خارج کرده و مجدداً امتحان نماید (به منظور جلوگیری از مجاری نای).

داروها. مرفین سولفات و نالوکسان، از دارو پخش (ایران) و اسید استیک، فرمالین، گزین و کاراگینان از شرکت مرک (Merck) آلمان تهیه شدند.

آزمون‌های درد

تست رایتینگ. ۱۵ دقیقه بعد از دریافت اسانس و یا داروهای مختلف اسید استیک به حجم ۰/۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم

تعیین سمیت حاد (Lethal Dose 50: LD50). تعیین سمیت حاد بر اساس مدل آزمایشگاهی قبلی به انجام رسید [۲۷، ۲۴]. دوزهای مختلف اسانس به صورت دهانی (گاواژ) و مجزا به موش‌های سوری تزریق شدند. میزان مرگ و میر حیوانات تا ۷۲ ساعت بعد از تزریق شمارش گردید و LD50 اسانس گیاه تعیین گردید.

تجزیه و تحلیل آماری. داده‌ها به صورت میانگین خطای استاندارد از میانگین $\text{mean} \pm \text{S.E.M}$ ارائه شده و از تحلیل واریانس یک طرفه استفاده گردید و به دنبال آن از آزمون توکی استفاده شد. پس از به دست آوردن اطلاعات از گروه‌های آزمایشی مختلف، نتایج گروه‌های فوق تجزیه و تحلیل و $P < 0.05$ به عنوان شاخص معنی‌دار بودن مطرح گردید. برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS استفاده شد.

نتایج

تست رایتینگ. هم‌چنین نتایج مطالعه مرتبط با تست رایتینگ نشان داد که استفاده از دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سبب کاهش تعداد رایتینگ نسبت به گروه کنترل گردید (به ترتیب با: $P < 0.05$ ، $P < 0.05$ ، $P < 0.01$). در این مدل آزمایشگاهی مشخص شد که استفاده از نالوکسان به همراه دوز بالای اسانس سبب برگرداندن اثرات ضد دردی اسانس به تنهایی گردید. از سویی استفاده از دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسانس در مقایسه با گروه مورفین نشان از تفاوت معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ داشت (شکل ۱).

تست تیل فلیک. در تست تیل فلیک نیز استفاده از دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسانس اثر ضد دردی معنی‌داری را ($P < 0.01$) در مقایسه با گروه کنترل نشان داد و مدت زمان عکس‌العمل پرش دم در موش‌های سوری (tail-flick latency) را از $9 \pm 2/12$ ثانیه به $11 \pm 6/24$ ثانیه افزایش داد. در این آزمایش نیز استفاده توام نالوکسان به همراه دوز بالای اسانس سبب برگرداندن اثرات ضد دردی اسانس شد. استفاده از مورفین سبب افزایش مدت زمان عکس‌العمل پرش دم در موش‌ها را از $9 \pm 2/52$ ثانیه در گروه کنترل به $12 \pm 7/9$ ثانیه گردید ($P < 0.01$) (شکل ۲).

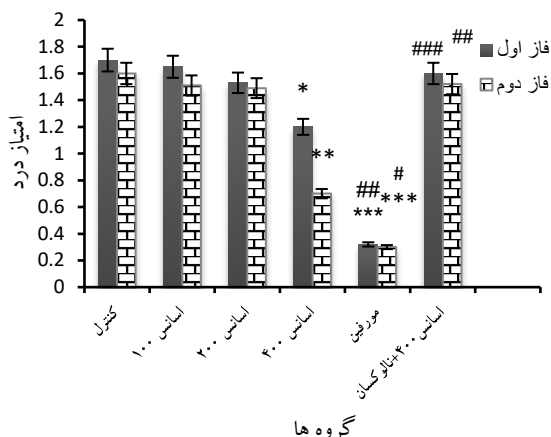
وزن بدن با غلظت ۱٪ [۱۸] و به صورت درون صفاقی تزریق شد و ۵ دقیقه پس از تزریق اسید استیک تعداد انقباضات شکمی شمارش گردید. معیار سنجش در این تست تعداد انقباضات شکمی موش‌های سوری نر بود [۲۰، ۱۹].

تست تیل فلیک. این آزمایش با استفاده از دستگاه پرش دم، مدل TF-5380 ساخت شرکت برج صنعت ایران انجام گرفت. آزمون بر اساس مدل ارائه شده قبلی انجام شد [۲۱]. شدت نور مورد استفاده برابر با ۷ بود و از مدت زمان مرجع ۱۰ ثانیه به عنوان زمان قطعی نوردهی (cut of time) استفاده شد. حیواناتی که حداقل در دو آزمون از سه مورد فوق زمان تاخیر بیش از ۶ ثانیه داشتند از جریان آزمون حذف شدند. واحد شدت نور در این تست لوکس (lux) بود [۲۲]. در این تست مدت زمان واکنش (کشیدن دم) به محرک دمایی (منبع نور) ارزیابی گردید. تست فرمالین. در این آزمایش از یک جعبه پلکسی‌گلاس استفاده شد. به منظور مشاهده بهتر حرکات حیوان، آینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه زیر آن قرار می‌گرفت. ۳۰ دقیقه پس از تزریق دهانی داروها، ۵۰ میکرولیتر فرمالدئید ۲/۵٪ به کف پای راست حیوان به صورت زیرجلدی تزریق شد و رفتار حیوان برای مدت ۶۰ دقیقه نمره‌گذاری شد. میانگین ۵ دقیقه ابتدای هر تست به عنوان فاز اول تست فرمالین (فاز حاد) و میانگین ۶۰-۱۵ تست به عنوان فاز دوم تست فرمالین (فاز مزمن) محسوب شد. معیار سنجش در این تست بر اساس امتیاز حاصل از لبسیدن کف پا، بلند کردن پا و یا مراقبت موش سوری نر از پای تزریق شده به دست آمد [۲۳].

آزمون‌های التهاب. تست گزین. این تست با استفاده از تجویز گزین در گوش موش‌های سوری انجام شد. چنانچه دو ساعت بعد از تجویز گزین حیوانات کشته شدند و هر دو گوش حیوان را جدا کرده و با استفاده از چوب پنبه سوراخ کن، برش‌های ۷ میلی‌متری از دو گوش چپ و راست گرفته شد و وزن گردید و اختلاف وزن برش‌های دو گوش چپ و راست مشخص شد. معیار سنج در این تست اختلاف وزن گوش موش‌های سوری بود [۲۴].

تست کاراگینان. یک ساعت پس از تزریق دوزهای مختلف اسانس، دگزامتازون و یا حلال (ترکیبی از توئین ۸۰ (۲٪) و آب مقطر) به صورت درون صفاقی، ۰/۱ میلی‌لیتر کاراگینان (λ -carrageenan) ۱٪ به صورت زیرجلدی به کف پای راست حیوان تزریق شد. چهار ساعت بعد از تزریق کاراگینان، موش‌ها توسط کلروفورم کشته و پای آن‌ها قطع شد. سپس بلافاصله اختلاف وزن پای راست و چپ حیوان به عنوان شاخص التهابی ارزیابی گردید [۲۶، ۲۵].

با $P < 0.05$ و $P < 0.01$ را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد به نحوی که امتیاز درد را کاهش داد (شکل ۳).



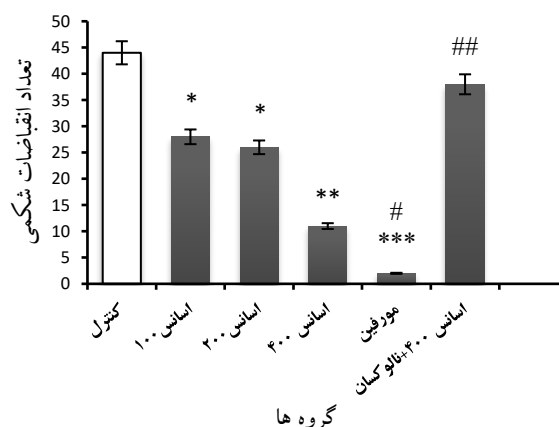
شکل ۳. مقایسه میانگین نمره درد موش سوری در آزمون فرمالین. اسانس با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت دهانی و نیز مورفین (آگونیست غیر اختصاصی سیستم اپیوئیدی) و نالوکسان (آنتاگونیست غیر اختصاصی سیستم اپیوئیدی) با دوز ۱ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت درون صفاقی تزریق شدند. نتایج به صورت $\text{mean} \pm \text{SEM}$ ارائه شده اند. آنالیز واریانس یک طرف و پس از آزمون توکی استفاده شد. $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل. $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.001$ در مقایسه با گروه اسانس ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در همان فاز.

تست گزین. طبق نتایج حاصله از تست گزین، استفاده از دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم اسانس این گیاه به طور معنی داری به ترتیب با $P < 0.05$ و $P < 0.01$ با درصد مهار ۳۰٪ و ۵۹٪ در مقایسه با گروه کنترل سبب کاهش اختلاف وزن گوش راست و چپ موش شد (جدول ۱).

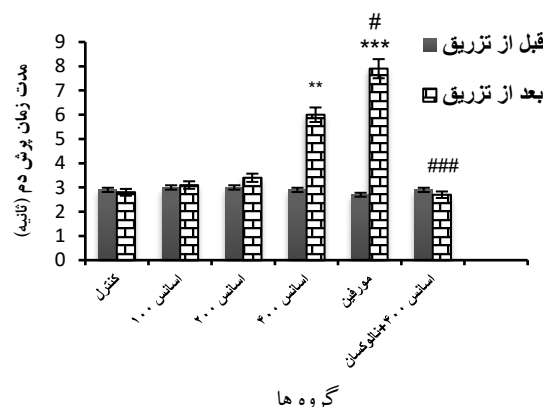
جدول ۱. اثر تزریق اسانس مارچوبه و دگزامتازون بر التهاب ناشی از گزین در موش های سوری

گروه ها	اختلاف وزن گوش راست و چپ موش (mg)	درصد مهار
کنترل (۱۰ mg/kg)	0.1 ± 0.07	
اسانس ۱۰۰ mg/kg	0.2 ± 0.07	٪ ۶/۲
اسانس ۲۰۰ mg/kg	0.5 ± 0.02	٪ ۳۰/۵
اسانس ۴۰۰ mg/kg	2.0 ± 0.04 ***	٪ ۵۹/۱
دگزامتازون ۱۵ mg/kg	0.3 ± 0.02 ****	٪ ۶۲/۲

$P < 0.05$ ، $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل. اختلاف وزن گوش ها به میلی گرم (mg) بود.



شکل ۱. مقایسه میانگین تعداد رایتینگ (انقباضات شکمی) موش سوری در آزمون اسید استیک. اسانس با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت دهانی و نیز مورفین (آگونیست غیر اختصاصی سیستم اپیوئیدی) و نالوکسان (آنتاگونیست غیر اختصاصی سیستم اپیوئیدی) با دوز ۱ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت درون صفاقی تزریق شدند. نتایج به صورت $\text{mean} \pm \text{SEM}$ ارائه شده اند. آنالیز واریانس یک طرف و پس از آزمون توکی استفاده شد. $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل. $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ در مقایسه با گروه اسانس ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم.



شکل ۲. مقایسه میانگین مدت زمان پرش دم در تست تیل فلیک. اسانس با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت دهانی و نیز مورفین (آگونیست غیر اختصاصی سیستم اپیوئیدی) و نالوکسان (آنتاگونیست غیر اختصاصی سیستم اپیوئیدی) با دوز ۱ میلی گرم بر کیلوگرم به موش ها به صورت درون صفاقی تزریق شدند. نتایج به صورت $\text{mean} \pm \text{SEM}$ ارائه شده اند. آنالیز واریانس یک طرف و پس از آزمون توکی استفاده شد. $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل. $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ در مقایسه با گروه اسانس ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم.

تست فرمالین. نتایج حاصل از این تست نشان داد که استفاده از دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم اسانس در هر دو فاز اول و دوم تست فرمالین، اثر ضد دردی معنی داری (به ترتیب

تست کاراگینان. طبق نتایج حاصله از تست کاراگینان، استفاده از دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم اسانس این گیاه به طور معنی داری به ترتیب با $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل سبب کاهش اختلاف وزن پنجه پای راست در مقایسه با پای چپ موش شد (جدول ۲).

سمیت حاد. طی این آزمون هیچ گونه مرگ و میری در موش ها پس از ۷۲ ساعت از مصرف دوزهای مختلف اسانس مشاهده نشد (جدول ۳).

جدول ۲. اثر تزریق اسانس مارچوبه و دگزامتازون بر التهاب ناشی از کاراگینان در موش های سوری نر

گروه ها	اختلاف وزن پنجه پای راست در مقایسه با پای چپ موش (mg)	درصد مهار
کنترل (۱۰ mg/kg)	6.0 ± 3.7	
دوز ۱۰۰ mg/kg اسانس	59 ± 1.5	٪ ۱/۹
دوز ۲۰۰ mg/kg اسانس	$50.4 \pm 9.6^*$	٪ ۱۸/۲
دوز ۴۰۰ mg/kg اسانس	$84.2 \pm 4.4^{***}$	٪ ۳۰/۱
دوز ۱۵ mg/kg دگزامتازون	$64.6 \pm 1.1^{***}$	٪ ۷۳/۷

* $P < 0.05$ ، ** $P < 0.01$ ، *** $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل. اختلاف وزن پاها به میلی گرم (mg) بود.

جدول ۳. نتایج تست سمیت حاد اسانس مارچوبه ایرانی در موش های سوری نر

اولین مرحله از تست سمیت حاد		دومین مرحله از تست سمیت حاد	
ماده و دوز مصرفی mg/kg	تعداد حیوانات/ مرگ و میر	ماده و دوز مصرفی mg/kg	تعداد حیوانات/ مرگ و میر
APEO 10	۰/۶	APEO 1600	۰/۶
APEO 100	۰/۶	APEO 2900	۰/۶
APEO 1000	۰/۶	APEO 5000	۰/۶
APEO: اسانس مارچوبه ایرانی			

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه تجربی مشخص شد که استفاده از اسانس ریشه گیاه مارچوبه در موش های سوری نر احتمالاً می تواند اثرات ضد درد و ضد التهابی داشته باشد.

همان گونه که قبلاً اشاره شد Nwafor و Okwuasaba در سال ۲۰۰۳ مشخص کردند که گیاه هم خانواده مارچوبه یعنی *Asparagus pubescens* دارای اثرات ضد درد و ضد التهابی می باشد. این محققین نشان دادند که عصاره متانولی این گیاه

می تواند تعداد انقباضات شکمی را کاهش دهد. همچنین در مطالعه اشاره شده مشخص شد که عصاره مذکور می تواند سبب مهار درد در هر دو فاز تست فرمالین شود البته فاز اول را بیش تر کاهش داد. همچنین در این پژوهش مشخص شد که دوز بالای عصاره می تواند سبب مهار التهاب شود [۱۰]. در تحقیق حاضر نیز اسانس گیاه مارچوبه مانند مطالعه قبلی انجام شده، مانع دل پیچه (تعداد رایت ها: کشیدن بدن، کشیدن پاها یا انقباض شکمی) ناشی از اسید استیک گردید. البته تفاوت مطالعه حاضر با مطالعه قبلی در این بود که استفاده از دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم اسانس توانست اثر ضد دردی معنی داری را در تست رایتینگ نشان دهد اما در مطالعه قبلی این دوز از اسانس اثر ضد دردی معنی داری را نشان نداد. همچنین تفاوت دیگر مطالعه حاضر با مطالعه قبلی انجام شده در این بود که در مطالعه حاضر اثر ضد دردی گیاه در هر دو فاز تست فرمالین نمایش داده شد اما در مطالعه قبلی بیش ترین اثر ضد دردی گیاه در فاز اول تست فرمالین بود. در ارتباط با اثر ضد التهابی مارچوبه نیز نتایج ما هم خوان با نتایج مطالعه قبلی انجام شده بر روی گیاه *Asparagus pubescens* است [۱۰].

در مطالعه دیگری که توسط Hassan و همکاران در سال ۲۰۰۸ و بر روی گیاه *Asparagus africanus* انجام شد مشخص گردید که در تست تیل فلیک، استفاده از عصاره ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ریشه این گیاه می تواند سبب کاهش درد گردد. همچنین در این مطالعه استفاده از عصاره این گیاه توانست سبب کاهش التهاب گوش موش های سوری گردد [۲۸]. بر اساس این داده های به دست آمده نیز نتایج ما هم خوان با نتایج مطالعه قبلی می باشد. در مطالعه ای دیگر که بر روی گیاه هم خانواده مارچوبه انجام شد به روشنی بیان شده بود که استفاده از عصاره گیاه *Asparagus racemosus* در تست های تیل فلیک و رایتینگ اثر ضد دردی معنی داری را نشان نداد [۲۹] که متضاد با نتایج مطالعه حاضر می باشد.

در مطالعه حاضر همان گونه که قبلاً اشاره شد اثر ضد دردی مارچوبه در هر سه تست ارزیابی کننده درد یعنی تست رایتینگ، فرمالین و تیل فلیک مشاهده گردید، البته این اثر ضد دردی بیش تر در تست رایتینگ مشاهده شد. طبق مطالعات انجام شده قبلی مشخص شده که تزریق اسید استیک می تواند سبب ایجاد التهاب حاد صفاق شود. در این مدل، به نظر می رسد که اثرات ضد دردی محیطی گیاه مارچوبه به طور غیر مستقیم به وسیله مدیاتورهای داخلی نظیر هیستامین، ماده - p و پروستاگلاندین ها ایجاد شده باشد، چرا که همه این مدیاتورها با تحریک نورون های دردزای محیطی در ارتباط می باشند [۳۰].

همچنین استفاده از دوز بالای مارچوبه در تست تیل فلیک اثر ضد دردی معنی را نشان داد. از آنجا که تست تیل فلیک به منظور بررسی رفلکس‌های نخاعی استفاده می‌شود [۳۱]، می‌توان پیشنهاد کرد که اسانس مارچوبه توانسته از طریق رفلکس‌های نخاعی اثر ضد دردی خود را اعمال کند.

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که اسانس مارچوبه در تست فرمالین اثر مهاری بر درد اعمال می‌کند، البته این اثر به نحوی است که فاز دوم (فاز التهابی) را بیش‌تر از فاز اول (نوروژنیک) کاهش می‌دهد. در مطالعه دیگری که توسط Xiang-Hui و همکاران در سال ۲۰۱۷ انجام شد مشخص گردید که اسانس گیاه *Asparagus cochinchinensis* در فاز اول تست فرمالین امتیاز درد را بیش‌تر از فاز دوم این تست کاهش داد که متضاد با نتایج مطالعه حاضر بود [۳۲]. در تایید اثر ضد التهابی احتمالی اسانس گیاه تست‌های معتبر گزین و کاراگینان مورد ارزیابی قرار گرفت.

یکی از مهم‌ترین داروهای قوی رایج به منظور مهار درد مورفین است. مورفین با اثر بر گیرنده‌های میو، دلتا و کاپا اویپوئیدی می‌تواند سبب کاهش درد گردد [۳۳]. در مطالعه حاضر به منظور بررسی نقش سیستم غیراختصاصی اویپوئیدی در ایجاد اثر ضد دردی اسانس مارچوبه ایرانی از نالوکسان (آنتاگونیست غیر اختصاصی سیستم اویپوئیدی) استفاده شد. نتایج ما نشان داد که تزریق نالوکسان می‌تواند سبب مهار (برگرداندن) اثر ضد دردی اسانس مارچوبه گردد. این نتایج ثابت می‌کند که احتمالاً سیستم اویپوئیدی نقش مهمی را در اثر ضد دردی اسانس مارچوبه ایرانی بازی می‌کند.

تست لقاء ادم توسط گزین یکی از مدل‌های مفید به منظور ارزیابی عوامل ضد التهابی است. در این مدل پس از لقاء گزین، گشاد شدن عروق و در نتیجه ادم حاد پوست را داریم [۳۴]. طبق نتایج حاصل از آزمایش حاضر التهاب گوش‌های موش‌های سوری با تزریق اسانس به ویژه دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آن کاهش یافت که نشان از اثر ضد التهابی اسانس دارد. در مطالعه‌ای که توسط Choo و همکاران در سال ۲۰۰۹ انجام شد مشخص گردید اسانس ریشه گیاه *Asparagus nigrum* با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم التهاب گوش موش‌ها را در تست گزین کاهش نداد که از این نظر متضاد با نتایج مطالعه حاضر بود اگرچه توانسته بود در تست کاراگینان سبب مهار التهاب گردد [۳۵].

همچنین در مطالعه دیگری که بر روی گیاه *Asparagus racemosus* انجام گرفت مشخص شد که عصاره اتانولی این گیاه در مدل کاراگینان اثر ضد التهابی داشته (۴۶٪ التهاب را کاهش داد) و این اثر از طریق فلاونوئیدهای این گیاه اعمال

شده است [۳۶]. در مطالعه ما نیز استفاده از دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسانس توانست سبب مهار التهاب به میزان ۳۰٪ گردد که از نظر مهار التهاب مشابه با کار انجام شده بر روی گیاه هم‌جنس مارچوبه ایرانی یعنی *racemosus* *Asparagus* بود.

التهاب فرایندی بسیار پیچیده است و وابستگی شدیدی با سیتوکین‌ها دارد. اینترلوکین-۶ و فاکتور نکروزکننده توموری-آلفا جزء مهم‌ترین ترکیبات درگیر در فرآیند التهاب هستند. مطالعات نشان داده‌اند که طی التهاب مقادیر اینترلوکین-۶ و فاکتور نکروزکننده توموری-آلفا افزایش می‌یابد و داروهای ضد التهابی می‌توانند سبب کاهش این دو فاکتور شوند [۳]. احتمال می‌رود کاهش سطوح دو فاکتور ذکر شده می‌تواند دلیلی دیگر بر خاصیت ضد التهابی اسانس گیاه مارچوبه ایرانی باشد. همان‌طور که اشاره شد ترکیبات شیمیایی مهم این گیاه عمدتاً ترکیبات فلاونوئیدی و ساپونینی بودند. امروزه در مطالعات مختلفی اثرات ضد دردی و ضد التهابی ساپونین‌ها و فلاونوئیدهای مختلف به روشنی مشخص شده است [۳۷-۴۰]. احتمال می‌رود اسانس مارچوبه توانسته باشد با توجه به دارا بودن این فلاونوئیدها از طریق مسیرهای فاکتور هسته‌ای (nuclear factor- κ B) و مسیر پروتئین فعال شده نوع-۱ (activator protein-1) و یا از طریق مسیر NO/cGMP/PKG/ATP و یا سایر مسیرهای مهم در سیگنالینگ درد و التهاب سبب مهار درد و التهاب در موش‌های سوری شده باشد [۴۱].

همچنین در مطالعه‌ای که توسط Nwafor و همکاران در سال ۲۰۰۴ انجام گرفت مشخص شده بود که ریشه گیاه *Asparagus pubescens* پس از استفاده از دوزهای ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ میلی‌گرم عصاره سبب مرگ و میر موش‌های سوری گردید (به ترتیب با مرگ و میر ۱ و ۳ موش سوری) [۴۲]. این مطالعه نیز متناقض با نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر بود چرا که در مطالعه حاضر استفاده از دوزهای ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسانس مارچوبه سبب مرگ و میر موش‌های سوری نشد.

در یک نتیجه‌گیری کلی از آزمایش حاضر می‌توان دریافت که استفاده از اسانس ریشه گیاه مارچوبه ایرانی به صورت دهانی احتمالاً می‌تواند با مهار مدیاتورهای التهابی سبب مهار التهاب و از طریق مهار سیستم‌های مرکزی و محیطی سبب کاهش درد در موش‌های سوری نر شده باشد. همچنین این مطالعه نشان داد که اسانس این گیاه سمیت حادی را پس از استفاده از دوزهای ذکر شده ندارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح پژوهشی مصوب دانشگاه علوم تحقیقات تهران با کد: ۹۸۱۷۲ می‌باشد. تضاد منافع مالی و غیر مالی در خصوص این پژوهش برای نویسندگان مقاله وجود ندارد.

منابع

- [15] Sosa S, Pelin M, Cavion F, Hervé F, Hess P, Tubaro A. Acute oral toxicity of pinnatoxin G in mice. *Toxins* 2020; 12: 87.
<https://doi.org/10.3390/toxins12020087>
PMid:32012834 PMCID:PMC7076786
- [16] Tekulu GH, Hiluf T, Brhanu H, Araya EM, Bitew H, Haile T. Anti-inflammatory and anti-nociceptive property of *Capparis tomentosa* Lam. root extracts. *J Ethnopharmacol* 2020; 253: 112654.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112654>
PMid:32035216
- [17] Yuan HL, Zhao YI, Ding CF, Zhu PF, Jin Q, Liu YP, et al. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Curcuma kwangsiensis* and its bioactive terpenoids in vivo and in vitro. *J Ethnopharmacol* 2020; 259: 112935.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112935>
PMid:32387235
- [18] Gawade S. Acetic acid induced painful endogenous inflection in writhing test on mice. *J Pharmacol Pharmacother* 2012; 3: 348.
<https://doi.org/10.4103/0976-500X.103699>
PMid:23326113 PMCID:PMC3543562
- [19] Zarei M, Mohammadi S, Komaki A. Antinociceptive activity of *Inula britannica* L. and patuletin: In vivo and possible mechanisms studies. *J Ethnopharmacology* 2018; 219: 351-358.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.03.021>
PMid:29567278
- [20] Taherian AA, Sameni HR, Sharifi S, Taherian MH. Effects of hydroalcoholic extract of Iranian Propolis on acute, chronic and visceral pain in mice. *Koomesh* 2020; 22: 170-177. (Persian).
<https://doi.org/10.29252/koomesh.22.1.170>
- [21] Mahmoodi M, Mohammadi S, Yavari A. Antinociceptive effect of hydro-alcoholic extract of biophytum sensitivum leaf on adult male rat. *J Babol Univ Med Sci* 2014; 16: 31-37. (Persian).
- [22] McMahon SB, Koltzenburg M, Tracey I, Turk D. Wall & melzack's textbook of pain e-book: Elsevier Health Sciences; 2013; 192-193.
- [23] Golshani Y, Mohammadi S. Evaluation of antinociceptive effect of methanolic extract of *Lallemantia iberica* in adult male rats. *Armaghane Danesh* 2015; 19: 1058-1068. (Persian).
- [24] Mahmoudi M, Mohammadi S, Shahidi S. Antinociceptive effect of hydroalcoholic leaf extract of *Hedera helix* in male rat. *Avicenna J Clin Med* 2013; 20: 119-125.
- [25] Fallahzadeh AR, Mohammadi S. Assessment of the antinociceptive, anti-inflammatory, and acute toxicity effects of *solanum dulcamara* essential oil in male mice. *J Babol Univ Med Sci* 2020; 22: 162-168. (Persian)
- [26] Sharifi SM, Eidi A, Haeri RS. Anti-Inflammatory effect of *glycyrrhiza glabra* ethanolic extract in adultmale NMRI mice. 2018; 11: 15-25. (Persian).
- [27] Asgari NM, Mohammadi S. The analgesic effect of *Echinophora platyloba* hydroalcoholic extract in male rats. 2016; 18: 31-37. (Persian).
- [28] Hassan H, Ahmadu A, Hassan A. Analgesic and anti-inflammatory activities of *Asparagus africanus* root extract. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 2008; 5: 27-31.
<https://doi.org/10.4314/ajtcam.v5i1.31252>
PMid:20162051 PMCID:PMC2816601
- [29] Iqbal M, Bibi Y, Raja NI, Ejaz M, Hussain M, Yasmeen F, et al. Review on therapeutic and pharmaceutically important medicinal plant *Asparagus officinalis* L. *J Plant Biochem Physiol* 2017; 5: 2.
<https://doi.org/10.4172/2329-9029.1000180>
- [30] Mahmoodi M, Mohammadi S, Enayati F. Evaluation of the antinociceptive effect of hydroalcoholic extract of *Potentilla reptans* L. in the adult male rat. *SSU J* 2016; 24: 201-210. (Persian).
- [31] Vanegas H, Barbaro NM, Fields HL. Tail-flick related activity in medullospinal neurons. *Brain Res* 1984; 321: 135-141.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(84\)90689-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(84)90689-9)
- [32] Xiang-Hui J, Gui-Ping Z, Jun OL, Chao-Wen S. An efficient system for the production of the medicinally
- [1] Spisak T, Kincses B, Schlitt F, Zunhammer M, Schmidt-Wilcke T, Kincses ZT, Bingel U. Pain-free resting-state functional brain connectivity predicts individual pain sensitivity. *Nat Commun* 2020; 11: 1-12.
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-13785-z>
PMid:31924769 PMCID:PMC6954277
- [2] Liao Y, Zhao J, Bulek K, Tang F, Chen X, Cai G, et al. Inflammation mobilizes copper metabolism to promote colon tumorigenesis via an IL-17-STEAP4-XIAP axis. *Nat Commun* 2020; 11: 1-15.
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-14698-y>
PMid:32060280 PMCID:PMC7021685
- [3] Karimy JK, Reeves BC, Damisah E, Duy PQ, Antwi P, David W, et al. Inflammation in acquired hydrocephalus: pathogenic mechanisms and therapeutic targets. *Nat Rev Neurol* 2020; 1-12.
<https://doi.org/10.1038/s41582-020-0321-y>
PMid:32152460 PMCID:PMC7375440
- [4] Asgari Nematian M, Yaghmaei P, Mohammadi S. Assessment of the antinociceptive, antiinflammatory and acute toxicity effects of *Ducrosia anethifolia* essential oil in mice. *Sci J Kurdistan Univ Med Sci* 2017; 22: 74-84. (Persian).
- [5] Bussmann RW, Batsatsashvili K, Kikvidze Z. *Asparagus persicus* Baker *Asparagus* sp. A sparagaceae. *Ethnobotany of the Mountain Regions of Central Asia and Altai* 2020: 1-6.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-77087-1_24-1
PMCID:PMC7525228
- [6] Mousavizadeh SJ, Hassandokht MR, Kashi A. Multivariate analysis of edible *Asparagus* species in Iran by morphological characters. *Euphytica* 2015; 206: 445-457.
<https://doi.org/10.1007/s10681-015-1508-y>
- [7] Kargar JH, Karimi JH, Kargar JZ, Khabbaz KZ. The effect of the aqueous root extract of edible asparagus native to iran on serum progesterone and lh levels in adult female rats. 2015. (Persian).
- [8] Negi J, Singh P, Joshi G, Rawat M, Bisht V. Chemical constituents of *Asparagus*. *Pharmacogn Rev* 2010; 4: 215.
<https://doi.org/10.4103/0973-7847.70921>
PMid:22228964 PMCID:PMC3249924
- [9] Nishizawa M, Kano M, Okuyama T, Okumura T, Ikeya Y. Anti-inflammatory effects of enzyme-treated asparagus extract and its constituents in hepatocytes. *Funct Foods Health Dis* 2016; 6: 91-109.
<https://doi.org/10.31989/ffhd.v6i2.228>
- [10] Nwafor PA, Okwuasaba F. Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of methanolic extract of *Asparagus pubescens* root in rodents. *J Ethnopharmacol* 2003; 84: 125-129.
[https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00213-1](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00213-1)
- [11] Mittal S, Dixit PK. In-vivo anti-inflammatory and anti-arthritis activity of *Asparagus racemosus* roots. *Int J Pharmace Sci Res* 2013; 4: 2652.
<https://doi.org/10.7897/2230-8407.04433>
- [12] Golshani Y, Mohammadi S. Antidepressant and anxiolytic effects of *Rhus Coriaria* in male rats. *KAUMS J (FEYZ)* 2019; 23: 476-484. (Persian).
- [13] Golshani Y, Mohammadi S. Antinociceptive and acute toxicity effects of *erigeron acer* L. In adult male rats. *J Med Plants* 2017; 2: 85-93. (Persian).
- [14] Self I, Grubb T. Physiology of pain. *BSAVA Guide to Pain Management in Small Animal Practice: BSAVA Library*; 2019; p: 3-13.
<https://doi.org/10.22233/9781910443453.2>

- [38] Han Y, Zhang X, Qi R, Li X, Gao Y, Zou Z, Cai R, Qi Y. Lucyoside B, a triterpenoid saponin from *Luffa cylindrica*, inhibits the production of inflammatory mediators via both nuclear factor- κ B and activator protein-1 pathways in activated macrophages. *J Funct Foods* 2020; 69: 103941. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103941>
- [39] Ahmadi Moghaddam D, Sadeghian R, Ranjbar A, Izadidastenaie Z, Mohammadi S. Antinociceptive activity of *Cnicus benedictus* L. leaf extract: a mechanistic evaluation. *Res Pharm Sci* 2020; 1: 463-472. <https://doi.org/10.4103/1735-5362.297849> PMID:33628288 PMCID:PMC7879793
- [40] Maleki SJ, Crespo JF, Cabanillas B. Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food Chem* 2019; 299: 125124. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125124> PMID:31288163
- [41] Ferraz CR, Carvalho TT, Manchope MF, Artero NA, Rasquel-Oliveira FS, Fattori V, et al. Therapeutic potential of flavonoids in pain and inflammation: mechanisms of action, pre-clinical and clinical data, and pharmaceutical development. *Molecules* 2020; 25: 762. <https://doi.org/10.3390/molecules25030762> PMID:32050623 PMCID:PMC7037709
- [42] Nwafor PA, Jacks T, Longe O. Acute toxicity study of Methanolic extract of *Asparagus pubescens* root in rats. *Afr J Biomed Res* 2004; 7: 9-15. <https://doi.org/10.4314/ajbr.v7i1.54060>
- important plant: *Asparagus cochinchinensis* (Lour.) Merr. *Afr J Biotechnol* 2010; 9: 6207-6212.
- [33] Wootton M. Morphine is not the only analgesic in palliative care: literature review. *J Adv Nurs* 2004; 45: 527-532. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2648.2003.02936.x> PMID:15009356
- [34] Karbab A, Mokhnache K, Ouhida S, Charef N, Djabi F, Arrar L, Mubarak MS. Anti-inflammatory, analgesic activity, and toxicity of *Pituranthos scoparius* stem extract: An ethnopharmacological study in rat and mouse models. *J Ethnopharmacol* 2020; 258: 112936. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112936> PMID:32376367
- [35] Choo BK, Yoon T, Cheon MS, Lee HW, Lee AY, Kim HK. Anti-inflammatory effects of *Asparagus cochinchinensis* extract in acute and chronic cutaneous inflammation. *J Ethnopharmacol* 2009; 121: 28-34. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.07.006> PMID:18691647
- [36] Battu G, Kumar B. Anti-inflammatory activity of leaf extract of *Asparagus racemosus* Willd. *Int J Chem Sci* 2010; 8: 1329-1338.
- [37] Yang WS, Ko J, Kim E, Kim JH, Park JG, Sung NY, et al. 21-O-Angeloyltheasapogenol E3, a novel triterpenoid saponin from the seeds of tea plants, inhibits macrophage-mediated inflammatory responses in a NF- κ B-dependent manner. *Mediators Inflamm* 2014; 2014: 658351. <https://doi.org/10.1155/2014/658351> PMID:25477714 PMCID:PMC4245502

Antinociceptive and anti-inflammatory, and acute toxicity effects of *Asparagus persicus* essential oil in male mice

Ali Reza Fallahzadeh (Ph.D)¹, Saeed Mohammadi (Ph.D)^{*2}

1 - Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

2 – Dept. of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

* Corresponding author. +98 81 32518064 smiauhphd.sm@gmail.com

Received: 9 Jul 2020; Accepted: 3 Jan 2021

Introduction: In Iranian traditional medicine, *Asparagus persicus* has been used for treating rheumatic pain and inflammation. The aim of this study was to evaluate the analgesic and anti-inflammatory as well as acute toxicity effects of *Asparagus persicus* root essential oil (APEO) in male mice.

Materials and Methods: Male adult mice were used. In pain assessment tests (writhing, tail-flick, and formalin tests), animals divided to the six groups: control/vehicle (Tween 80+distilled water), three groups treated with the APEO (100, 200, and 400 mg/kg, gavage/oral treating), morphine (i.p.), and naloxone (i.p.) plus APEO (400 mg/kg). Moreover, inflammation test (xylene and carrageenan tests), animals divided to five groups: control, three groups of APEO (orally), and dexamethasone (i.p.). For toxicity tests, the animals were divided to the six groups.

Results: Results showed that APEO at a dose of 400 mg/kg in writhing and tailflick tests induced an antinociceptive effect as compared with the control ($P<0.01$). In addition, in xylene test, treatment with doses of 200 and 400 mg/kg of APEO reduced significantly the amount of mice ear inflammation compared to the control group. No acute toxicity of APEO was found.

Conclusion: Our findings suggests that APEO has antinociceptive and anti-inflammatory effects in male mice.

Keywords: Anti-Inflammatory Agents, Analgesics, Asparagus Plant, Toxicity