

## مقاله پژوهشی

### بررسی اثر ضد دردی و اولسروژنیک عصاره متانولی گیاه ناخنک

دکتر محمود رضا حیدری، دکتر فریبا نجفی ۲، دکتر علی اسدی پور ۳، دکتر مهدی انصاری ۴، دکتر محمدجواد زاهدی ۵ و دکتر مهرداد واحدیان ۶

#### خلاصه

بعضی از گیاهان در طب سنتی به عنوان ضد درد مصرف می‌شوند. هدف از این مطالعه، ارزیابی اثرات ضد دردی گیاه ناخنک ( *Melilotus officinalis* ) است که به طور سنتی برای رفع دردهای روماتیسمی و میگرنی و موارد دیگر به کار می‌رود. به این منظور عصاره متانولی سوکسله و پرکوله این گیاه با دوزهای مختلف، به صورت داخل صفاقی به موش سوری تزریق و اثر ضد دردی آن با آزمون‌های Tail-Flick و فرمالین

اندازه گیری شد. نتایج حاصل نشانگر این است که عصاره حاصل از روش سوکسله در آزمون Tail-Flick در تمامی دوزهای تزریق شده (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، قادر به ایجاد اثر ضد دردی بوده و در تمامی زمانهای مورد بررسی، اثر ضد دردی معنی داری نسبت به گروه شاهد داشته است. دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از بین دوزهای تزریق شده بیشترین اثر ضد دردی را اعمال کرد و این اثر ۱۲۰ دقیقه بعد از تزریق عصاره به حداکثر رسید (P)۰/۰۱). اثر ضد دردی عصاره سوکسله بیشتر از عصاره پرکوله بود. در تست فرمالین، دوز مؤثر ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره سوکسله دارای اثر ضد دردی معنی دار بود (P)۰/۰۱). از آنجا که پیش درمانی حیوانات با نالوکسان تغییری در اثر ضد دردی عصاره ایجاد نکرد، لذا احتمال دخالت گیرنده های اپیوئیدی در اثر ضد دردی عصاره منتفی است. در آزمون اولسروژنیستی مشخص شد که اثر زخم زایی عصاره نسبت به دوز مشابه آن از ایندومتاسین، کمتر است (P)۰/۰۱). بر اساس نتایج این تحقیق، عصاره گیاه ناخنک دارای اثر ضد دردی می باشد.

**واژه های کلیدی:** گیاهان دارویی، ناخنک، اثر ضد دردی، تست Tail flick، تست

فرمالین، اولسروژنیستی

مقدمه (۱۹، ۲۰، ۲۴)، جستجو برای یافتن داروهای

ضددرد جدید که دارای عارضه کمتر

با توجه به این که داروهای ضد

باشند امری منطقی بوده و چنین به نظر

درد موجود دارای عوارض نامطلوبی هستند

هاضمه، قولنج‌های کبدی و رفع درد  
معدمه مصرف دارد (۵، ۹، ۱۳، ۱۵). در  
استعمال خارجی به صورت ضماد یا پماد بر  
روی محل‌های ملتهب و زخم‌های چرکی  
و متورم و ورم‌های مفصلی برای رفع  
دردهای روماتیسمی و رفع التهاب بکار  
می‌رود (۹، ۱۰، ۱۶).

تحقیقات متعددی در مورد اثر ضد  
دردی عصاره‌های گیاهی که در طب سنتی  
به عنوان ضد درد از آنها یاد شده با  
روش‌های جدید فارماکولوژیک در نقاط  
مختلف دنیا انجام شده است (۱، ۷، ۸، ۱۸، ۲۱)  
ولی در بررسی منابع اطلاعاتی، مطالعه  
علمی و کلاسیکی در مورد اثر ضد درد  
گیاه ناخنک یافت نشد. لذا در این تحقیق،  
اثر ضد درد این گیاه با دو روش  
فرمالین با مبنای شیمیایی ایجاد درد  
(۷، ۲۲، ۲۶) و Tail flick با مبنای  
فیزیکی ایجاد درد (حرارتی) (۸، ۱۷) در  
موش سوری مورد بررسی قرار گرفت.

می‌رسد که گیاهان دارویی جایگاه مناسبی  
در این کنکاش داشته باشند (۷، ۸). در طب  
سنتی در مورد اثرات متفاوت گیاه ناخنک  
در درمان بیماری‌های گوناگون، به  
خصوص در درمان دردهای مفصلی،  
سردرد، تشنج و ورم روده و معده  
شواهدی موجود است (۲، ۹، ۱۲). نام‌های  
متداول این گیاه در زبان فارسی شامل:  
شبدرشیرین، شاه‌افسرزرد، یونجه زرد،  
شبدر زرد (۲، ۳، ۱۲) اکلیل‌الملک، ناخنک  
(۵) و اسپست زرد می‌باشد. در طب سنتی  
از میوه آن به عنوان ضد درد، ضد التهاب،  
ضد اسپاسم، ضد نفخ و تقویت کننده  
استفاده می‌شود (۲، ۹، ۱۲). دانه این گیاه در  
زخم‌های مخاطی، دردهای مفصلی،  
برونشیت، سردرد، آسم، هموروئید، کرامپها  
و کولیت استفاده می‌شود (۲۳). دم کرده  
آن جهت رفع تحریکات عصبی و  
اضطراب، سرگیجه، دردهای عصبی،  
میگرن، دردهای روماتیسمی، احتباس  
ادرار، التهاب و ورم کلیه و مثانه، سوء

## مواد و روش‌ها

دستگاه‌های مورد استفاده شامل دستگاه عصاره‌گیری پرکوله (پرکولاتور) و سوکسله، ترازوی دیجیتال (مدل Sartrius PT.60)، آون، دستگاه تقطیر در خلأ (Heidolph WB 2000)، دستگاه Tail flick (ساخت شرکت پویای ارمغان مشهد)، آسیاب برقی (Minshun minolum) و مواد مورد استفاده شامل: متانول، فرمالین (ساخت کارخانه مرک آلمان)، مرفین، A.S.A، نالوکسان (تهیه شده از شرکت داروپخش) و عصاره گیاهی بود.

## تهیه عصاره گیاهی

میوه گیاه ناخنک با نام علمی *Melilotus Officinalis* از تیره پروانه‌واران (Leguminosae) از منطقه ماهان واقع در استان کرمان در خرداد ماه تهیه و توسط بخش کشاورزی دانشگاه شهیدباهنر نامگذاری شد. میوه یا

همان دانه گیاه ناخنک پس از خشک کردن و پودر نمودن، به دو روش پرکوله به مدت ۷۲ ساعت و سوکسله بمدت ۴ ساعت توسط متانول ۸۰٪ عصاره‌گیری شد (۱۱،۴). پس از تغلیظ عصاره در دستگاه تقطیر در خلأ، در داخل آون با حرارت ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا عصاره کاملاً خشک شود.

## تهیه محلول تزریقی عصاره ناخنک

پس از خشک شدن کامل عصاره، مقداری از آن وزن و درحجمی معین از سرم فیزیولوژی حل شد تا غلظتی برابر با ۱۰۰ mg/ml به دست آید (۱ گرم عصاره خشک در ۱۰ میلی‌لیتر). سپس از این محلول غلظت‌های تجربی ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره سوکسله و غلظت ۲۰ mg/ml از عصاره پرکوله تهیه شد و برای تزریق داخل صفاقی به موش به ازای هر ۱۰ گرم وزن بدن موش، ۰/۱ میلی‌لیتر از محلولهای تهیه شده، توسط

آب و غذا نگهداری می شدند. درجه حرارت آزمایشگاه  $22 \times 1$  درجه سانتی گراد و در طول آزمایشات ثابت بود. از هر حیوان فقط یک نوبت استفاده شد و در پایان آزمایش، حیوانات از طریق قطع نخاع کشته شدند.

### آزمون‌های فارماکولوژی بررسی اثرات

#### ضد دردی

آزمون‌های فارماکولوژیک گوناگونی برای بررسی اثرات ضد دردی وجود دارد. در این تحقیق از دو آزمون Tail Flick بامبنای فیزیکی ایجاد درد (حرارتی) (۱۷،۸) و آزمون فرمالین بامبنای شیمیایی ایجاد درد (۲۶،۲۲،۲۷) برای بررسی اثرات ضد دردی گیاه ناخنک استفاده شد.

در آزمون‌های ضد دردی تعداد

موش‌های هر گروه مورد آزمایش و شاهد ۷ عدد بود. گروه شاهد فقط حامل عصاره یعنی سرم فیزیولوژی را دریافت کردند.

#### آزمون Tail flick

سرنگ انسولین تزریق شد (۲۲،۸). به این ترتیب دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، به حیوان تزریق گردید.

### حیوان مورد آزمایش

برای بررسی اثر ضد دردی از موش سوری و برای مطالعه اثر اولسروژنیسیته از Rat استفاده شد (۱۹،۱۴،۲۰). موش

سوری نرسفید سوئیس

(Male Swiss Albino Mice) با وزن

تقریبی ۲۵-۲۰ گرم از انستیتو رازی

خریداری گردید. حیوانات در دسته‌های ۲۰

تا ۳۰ عددی نگهداری شدند که دارای

سیکل نوری ۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت

تاریکی بودند و از غذای ساخت کارخانه

خوراک دام پارس تغذیه شدند. موش‌ها ۲۴

ساعت قبل از انجام آزمایش به محل منتقل

شده و به آب و غذا دسترسی داشتند و یک

ساعت مانده به انجام آزمایش، وزن و در

قفس‌های مجزا، شماره گذاری شده و بدون

$\hat{I}\% \text{Analgesia Index} = \text{Test } 100$

Latency-Control LatencyCut  
off (10 sec)- Control Latency

Latency: فاصله زمانی از لحظه

تابش اشعه گرمای دستگاه تاجمع  
کردن و گریز دم حیوان از مسیر  
تابش.

Cut off: حداکثر مدت مجاز تابش

اشعه گرمای، چون بعد از آن تخریب  
بافتی روی می‌دهد (۸).

### ب - آزمون فرمالین

این آزمون یکی از آزمون‌های

استاندارد در مورد اندازه‌گیری پاسخ در

برابر درد می‌باشد. در این روش حیوان در

جایگاه مخصوصی که شامل یک چهارپایه

آلومینیومی می‌باشد و روی آن صفحه‌ای

شیشه‌ای قرار دارد، مستقر می‌گردد. بر

روی صفحه شیشه‌ای، قیف دهان گشادی

به قطر ۲۰ سانتی‌متر وجود دارد که حیوان

در زیر قیف و روی صفحه شیشه‌ای قرار

در این آزمون میزان بی‌دردی از

طریق مدت تأخیر در عکس‌العمل دم در

مقابل حرارت آسیب‌رسان بافتی،

اندازه‌گیری می‌شود که با تاباندن ستونی از

اشعه نوری به انتهای دم در سطح پشتی یا

شکمی دم است. این تأخیر شاخص

اندازه‌گیری درداست (۸، ۱۴).

تأخیر در عکس‌العمل حیوانات در

زمان‌های ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه

پس از تزریق اندازه‌گیری شد. در این

تست اثر دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و

۳۰۰ mg/kg از عصاره سوکسله

و ۲۰۰ mg/kg از عصاره پرکوله با اثر

۱۰ ml/kg سرم فیزیولوژی و ۳۰۰ mg/kg

آسپرین و ۲/۵ mg/kg مرفین مقایسه شد.

اثر ضد دردی با تعیین

Analgesia Index مشخص می‌شود

که با استفاده از فرمول ذیل محاسبه

می‌گردد:

درد ایجاد شده در اثر تزریق فرمالین به کف پای حیوان می باشد (۲۲، ۲۶، ۲۷).

### بررسی اثرات اولسروژنیک عصاره ناخنک

یکی از عوارض داروهای ضد درد

به ویژه داروهای ضد درد و ضدالتهاب

غیراستروئیدی، ایجاد زخم های گوارشی

می باشد. به این منظور در این پژوهش اثر

اولسروژنیک ناخنک با ایندومتاسین که

یک داروی ضد درد غیر استروئیدی

می باشد، بررسی و مقایسه شد (۱۹). حیوان

مورد آزمایش، Rat سفید و نر با وزن

۲۵۰-۲۰۰ گرم در گروه های ۳ تایی بود.

حیوانات بایستی ۲۴ ساعت قبل از آزمایش

در قفس های مشبکی نگهداری شوند به

طوری که اولاً فقط به آب دسترسی داشته

باشند و ثانیاً مدفوع آنها در دسترس نباشد.

زیرا به دلیل نبودن غذا، مدفوع خود

رامصرف می کنند که سبب ایجاد خطا در

آزمایش می شود. بعد از ۲۴ ساعت،

می گیرد. درفاصله ای از صفحه شیشه ای و

سطح افق، آینه ای با زاویه ۴۵ درجه قرار

گرفته است که مشاهدات را آسانتر

می کند. قبل از هر آزمایش حیوان به منظور

تطبیق با محیط جدید، ۱۵ دقیقه زیرقیف

شیشه ای قرار می گیرد. پس از این زمان،

حیوان آماده تزریق می باشد.

محلول تزریقی، فرمالین ۰/۵ درصد

به میزان ۲۵ میکرولیتر است که به عنوان

عامل ایجاد کننده درد به کار می رود. این

محلول به صورت زیر جلدی به کف پای

حیوان تزریق می شود و بلافاصله پس از

تزریق، مجدداً به زیر قیف شیشه ای منتقل

شده و پاسخ در برابر درد در محدوده زمانی

۳۰ دقیقه ثبت می شود. پاسخ در برابر درد

عبارت است از مجموع زمان هایی که

صرف تکان دادن، لیسیدن و گاز گرفتن

پای تزریق شده می شود (برحسب ثانیه).

این زمان ها هر ۵ دقیقه اندازه گیری

می شوند و مقدار عددی آن معرف مقدار

سوسپانسیون ایندومتاسین در نرمال سالین با دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوارکی توسط لوله خمیده متصل به سرنگ به حیوانات خورانده می شود. بعد از ۴ ساعت حیوان پس از بی هوشی به وسیله اتر کشته شده و معده آن جدا و دو سر آن بوسیله پنس گیره ای بسته می شود. سپس ۱۰ ml فرمالین ۲ درصد برای فیکس کردن لایه های داخلی دیواره، به درون معده تزریق می شود. بعد از ۲۰ دقیقه معده از قسمت انحنای بزرگتر آن برش داده شده و زخم های آن شمرده می شود. برای به دست آوردن شدت زخم (ulcer index) از معیار J-Score استفاده می شود (۲۰، ۱۹).  
 J-Score به صورت زیر محاسبه می شود:  

$$\text{Ulcer index} = a + 2b + 3c$$

$$a = \text{تعداد زخم های کوچک تر از ۱ میلی متر}$$

$$b = \text{تعداد زخم های بین ۱ تا ۲ میلی متر}$$

$$c = \text{تعداد زخم های بزرگ تر از ۲ میلی متر}$$

## آنالیز آماری

در هر سری از آزمایشات، اثر ضد دردی دوزهای مختلف به صورت میانگین و خطای معیار (Mean (SEM) × در ۷ موش ثبت شده است. برای مقایسه اثر دوزهای متفاوت عصاره، حامل، مرفین و آسپرین، از آنالیز واریانس (ANOVA) و به دنبال آن متد Newman-Keuls و برای مقایسه اثرات اولسروژنیک عصاره با ایندومتاسین از t-test استفاده شد (۸، ۷).  
 $P < 0.05$  «معنی دار در نظر گرفته شد».

## نتایج

### اثر ضد دردی

اثر ضد دردی عصاره متانولی حاصل از روش سوکسله با دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به روش Tail-Flick سنجیده شد. همه دوزهای عصاره متانولی با روش سوکسله، در تمامی زمانها پاسخ



در بقیه زمان‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بنابراین به طور کلی عصاره سوکسله مؤثرتر ارزیابی و در بقیه مراحل مورد استفاده قرار گرفت (نمودار ۲).

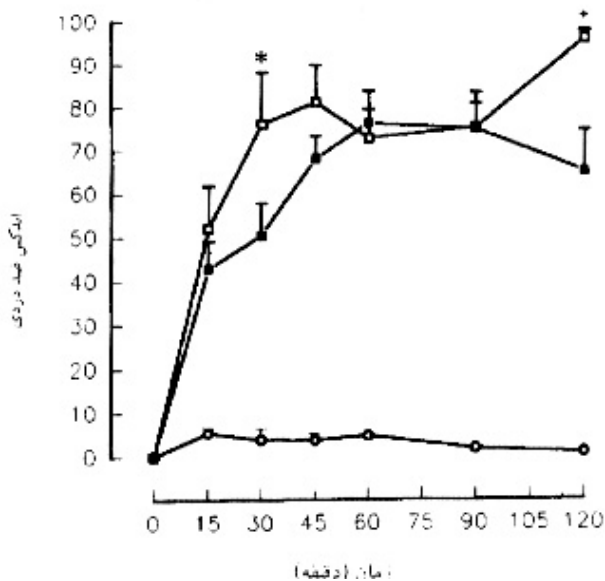
ضد دردی معنی‌داری را در مقایسه با سرم فیزیولوژی ایجاد کردند)  $P < 0.01$ ». دوز  $200 \text{ mg/kg}$  عصاره حاصل از روش سوکسله در اکثر زمان‌های پس از تزریق بیشترین اثر ضد دردی را ایجاد کرد)  $P < 0.01$ ». لذا به عنوان دوز مؤثر شناخته شد.

حداکثر اثر ضد دردی عصاره، ۱۲۰ دقیقه بعد از تزریق مشاهده گردید ( $P < 0.01$ ) (نمودار ۱).

### مقایسه پاسخ ضد دردی عصاره

#### سوکسله و عصاره پرکوله

مقایسه اثر ضد دردی دوز مؤثر  $200 \text{ mg/kg}$  عصاره متانولی حاصل از روش سوکسله با دوز  $200 \text{ mg/kg}$  عصاره متانولی حاصل از روش پرکوله نشان داد که این دو عصاره تقریباً شبیه هم عمل کرده و فقط در زمان‌های ۳۰)  $P < 0.05$ ) و ۱۲۰)  $P < 0.01$ ) دقیقه پس از تزریق، عصاره سوکسله مؤثرتر بود و

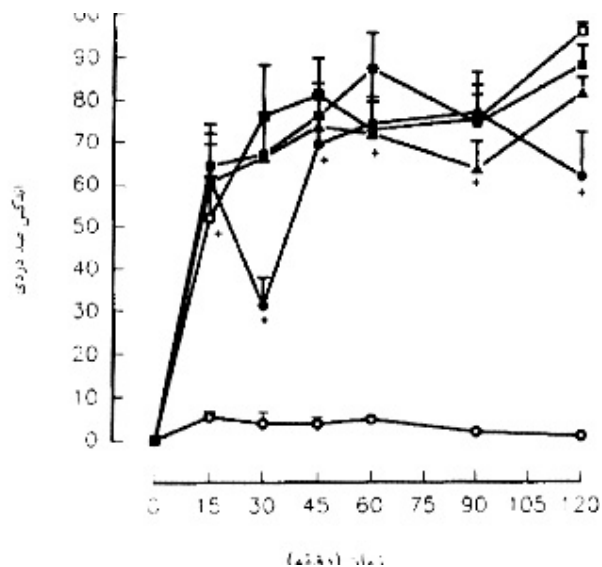


نمودار ۲: مقایسه اندکس ضد دردی

عصاره سوکسله و پرکوله گیاه ناخنک بر حسب زمان در موش سوری با روش

### Tail flick

- ( ) به موش ها مقدار ۱۰ ml/kg نرمال سالین ( )
- ( ) یا دوز ۲۰۰ میلی گرم از عصاره سوکسله ( )
- یا پرکوله ( ) گیاه ناخنک تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین خطای معیار اندکس ضد دردی در ۷ موش می باشد.  $P < 0.05$  و  $P < 0.01$ ،  $>$  اختلاف معنی دار نسبت به عصاره پرکوله



نمودار ۱: اندکس ضد دردی دوزهای

مختلف عصاره سوکسله گیاه ناخنک بر حسب زمان در موش سوری با روش

### Tail flick

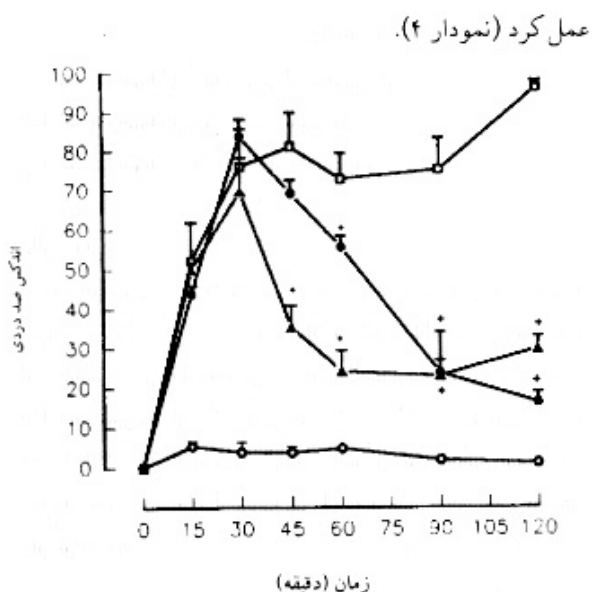
- به موش ها مقدار ۱۰ ml/kg نرمال سالین ( )
- یا عصاره سوکسله گیاه ناخنک با دوزهای ( ) ۵۰، ( ) ۱۰۰، ( ) ۲۰۰ یا ( ) ۳۰۰ (-) میلی گرم بر کیلوگرم تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین میانگین خطای معیار اندکس ضد دردی در ۷ موش می باشد.  $P < 0.01$ ،  $>$  اختلاف معنی دار نسبت به گروه کنترل

دقایق ایجاد شده است. در زمان‌های ۴۵، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.01$ ) مشاهده گردید که نشان‌دهنده اثر ضد دردی بیشتر عصاره نسبت به A.S.A در این دقایق بود (نمودار ۳).

### مقایسه اثر ضد دردی عصاره متانولی سوکسله با مرفین و A.S.A به روش فرمالین

دوز  $200 \text{ mg/kg}$  عصاره سوکسله در همه زمان‌ها به جز زمان ۵-۰ دقیقه، اثر ضد دردی معنی‌داری ایجاد نمود ( $P < 0.01$ ) (نمودار ۴). مقایسه اثر ضد دردی عصاره با  $2/5 \text{ mg/kg}$  مرفین نشان داد که در دقایق ۵-۰ و ۲۰-۱۵ با  $P < 0.01$  و در دقایق ۱۵-۱۰ با  $P < 0.05$  اختلاف معنی‌داری بین اثر ضد دردی عصاره سوکسله و مرفین وجود داشت که در دقایق ۵-۰ عصاره سوکسله ضعیف‌تر از مرفین و در دقایق ۱۵-۱۰ و ۲۰-۱۵

مقایسه پاسخ ضد دردی عصاره سوکسله با مرفین و A.S.A به روش Tail flick  
برای مقایسه اثر ضد دردی عصاره با مرفین، دوز  $2/5 \text{ mg/kg}$  از مرفین به صورت داخل صفاقی به موش‌ها تزریق گردید و اثر ضد دردی آن با عصاره متانولی حاصل از روش سوکسله با دوز  $200 \text{ mg/kg}$  مقایسه گردید. دوز  $200 \text{ mg/kg}$  عصاره در زمان‌های ۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه پس از تزریق، اختلاف معنی‌داری نسبت به مرفین ایجاد نکرد و در دقیقه‌های ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ پس از تزریق، عصاره اثر ضد دردی بیشتری نسبت به مرفین ایجاد نمود ( $P < 0.01$ ). در مقایسه پاسخ ضد دردی مؤثرترین دوز عصاره سوکسله با دوز  $300 \text{ mg/kg}$  از ((A.S.A, Acetyl Salicylic Acid در زمان‌های ۱۵ و ۳۰ دقیقه پس از تزریق، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد لذا اثر ضد دردی معادل با A.S.A در این



نمودار ۳: مقایسه اندکس ضد دردی عصاره سوکسله گیاه ناخنک و آسپرین و مرفین بر حسب زمان در موش سوری با روش Tail flick

به موش ها مقدار ۱۰ ml/kg نرمال سالین ( ) یا دوز ۲۰۰ میلی گرم از عصاره سوکسله ( ) یا استیل سالی سیلیک ۳۰۰ mg/kg (-) یا مرفین ۲/۵ mg/kg ( ) تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین خطای معیار اندکس ضد دردی در ۷ موش می باشد. +,  $P < 0.01$ ; اختلاف معنی دار نسبت به عصاره

قوی تر از مرفین عمل کرده است. در بقیه زمانها اختلاف معنی داری بین عصاره و مرفین وجود نداشت. این موضوع بیانگر آن است که عصاره اثر ضد دردی مناسب و قابل مقایسه ای با مرفین داشته است و فاز دوم درد را بهتر مهار می کند. در مقایسه اثر ضد دردی عصاره سوکسله با دوز ۲۰۰ mg/kg با A.S.A

دوز ۳۰۰ mg/kg، در ۲۵-۲۰ و ۳۰-۲۵ اختلاف معنی داری بین عصاره و A.S.A مشاهده نشد و این نشان می دهد که اثر ضد دردی عصاره در این دقایق تقریباً معادل با A.S.A است. در دقایق ۱۰-۵، ۱۵-۱۰ و ۲۰-۱۵ با  $P < 0.01$  اختلاف معنی داری بین عصاره و A.S.A مشاهده شد که در این دقایق، عصاره اثر ضد دردی بیشتری نسبت به A.S.A ایجاد کرد. همچنین در دقایق ۵-۰ با اختلاف معنی داری ( $P < 0.05$ )، A.S.A مؤثرتر از عصاره عمل کرد (نمودار ۴).

معیار مدت زمان پاسخگویی به اثر دردزایی  
فرمالین در ۷ موش می باشد.

$\times$ ،  $P < 0.05$  و  $+$ ،  $P < 0.01$ ؛ اختلاف

معنی دار نسبت به عصاره پرکوله

مقایسه اثر ضد دردی عصاره متانولی

سوکسله در حضور نالوکسان به دو

روش Tail flick و فرمالین

جهت یافتن مکانیسم اثر این

عصاره، نالوکسان که یک آنتاگونیست و

بلوک کننده انتخابی گیرنده های اپیوئیدی

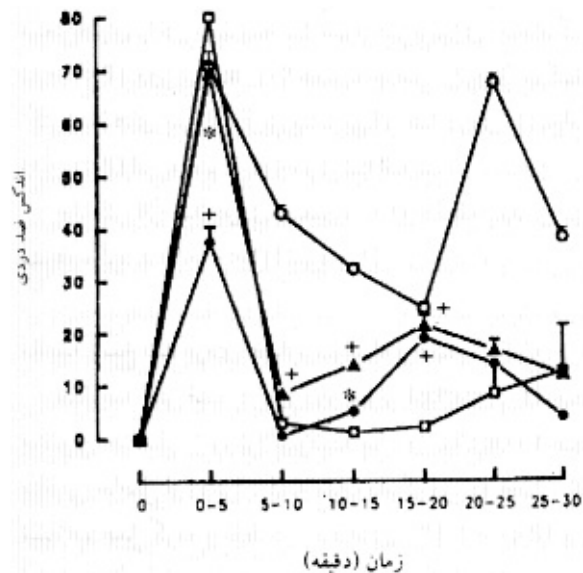
است، تجویز شد. ابتدا  $4 \text{ mg/kg}$  نالوکسان

به صورت زیرجلدی در ناحیه پشت حیوان

تزریق گردید و پس از گذشت ۵ دقیقه،

عصاره گیاهی با دوز  $200 \text{ mg/kg}$  به

صورت داخل صفاقی تزریق شد



زمان (دقیقه)

نمودار ۴: مقایسه اثر ضد دردی عصاره

سوکسله گیاه ناخنک با مرفین

و استیل سالیسیلیک بر حسب زمان در

موش سوری با تست فرمالین

به هر گروه از موش ها نرمال سالین به میزان

$10 \text{ ml/kg}$  ( ) یا دوز  $200$  میلی گرم از

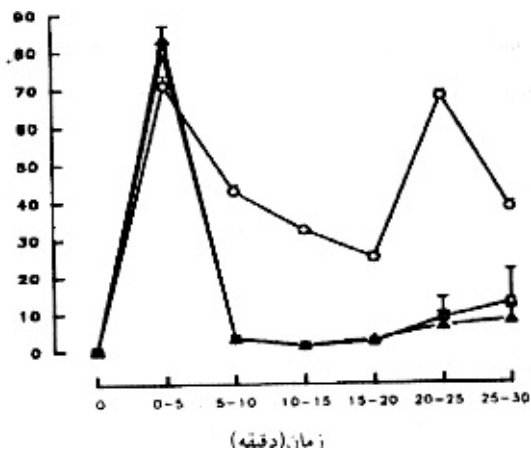
عصاره سوکسله گیاه ناخنک ( ) یا مرفین

$200 \text{ mg/kg}$  ( ) یا استیل سالیسیلیک اسید

$300 \text{ mg/kg}$  (-) به صورت داخل صفاقی،

۱۵ دقیقه قبل از فرمالین تزریق گردیده

است. هر نقطه نمایانگر میانگین خطای

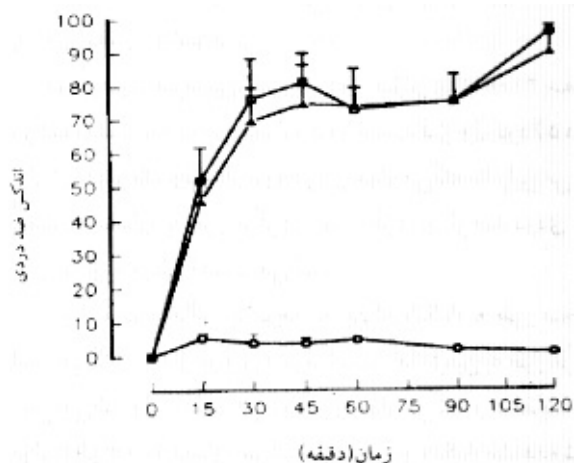


زمان

زمان (دقیقه)

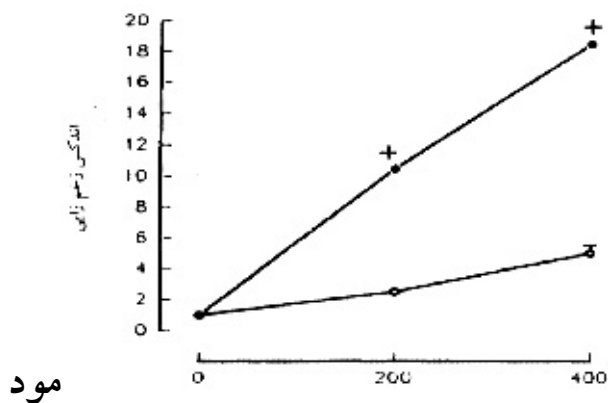
(دقیقه)

**نمودار ۶:** اثر ضد دردی عصاره سوکسله گیاه ناخنک در حضور نالوکسان بر حسب زمان در موش سوری با تست فرمالین به هر گروه از موش ها نرمال سالین به میزان ۱۰ ml/kg ( ) یا دوز ۲۰۰ میلی گرم از عصاره سوکسله گیاه ناخنک ( ) یا همان دوز عصاره، ۵ دقیقه پس از تزریق زیر جلدی ۴ mg/kg نالوکسان (-)، تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین خطای معیار در ۷ موش می باشد. و به روش های فرمالین و Tail flick اثر ضد دردی عصاره بانالوکسان و بدون



زمان (دقیقه)

**نمودار ۵:** اندکس ضد دردی مؤثرترین دوز عصاره سوکسله گیاه ناخنک در حضور نالوکسان بر حسب زمان در موش سوری باروش Tail flick به موش ها مقدار ۱۰ ml/kg نرمال سالین ( ) یا دوز ۲۰۰ mg/kg از عصاره سوکسله گیاه ناخنک در غیاب نالوکسان ( ) یا همین دوز ۵ دقیقه پس از تزریق زیر جلدی ۴ mg/kg نالوکسان (-)، به صورت داخل صفاقی تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین خطای معیار اندکس ضد دردی در ۷ موش می باشد.



ار ۷: اندکس زخم‌زایی ایندومتاسین و عصاره سوکسله گیاه‌ناخنک بر حسب دوز در موش سوری به هر گروه از موش‌ها دوزهای ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره سوکسله گیاه‌ناخنک ( ) یا ایندومتاسین ( ) به صورت خوراکی تجویز شده است. هر نقطه نمایانگر میانگین خطای معیار در ۳ رت می‌باشد. +,  $P < 0.01$ ; اختلاف معنی‌دار نسبت به ایندومتاسین

بحث و نتیجه‌گیری

ناخنک یا *Melilotus*

*Officinalis* در طب سنتی به عنوان

ضددرد، ضدالتهاب، ضد سردرد و دردهای روماتیسمی و دردهای عصبی و میگرنی و

حضور نالوکسان با هم مقایسه شدند که در هیچیک از زمان‌ها اختلاف معنی‌داری بین آنها مشاهده نشد. این امر نشان‌دهنده آن است که گیرنده‌های اپیوئیدی، در اثر ضددردی عصاره نقشی ندارند (نمودار ۵ و ۶).

مقایسه اثرات اولسروژنیک عصاره گیاه ناخنک و ایندومتاسین در معده *Rat*

نتایج بیانگر آن است که با خوراندن عصاره سوکسله ناخنک با دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به *Rat* و مقایسه آن با ایندومتاسین با دوزهای مشابه، زخم ایجادشده به وسیله ایندومتاسین در هر دو دوز، از عصاره سوکسله‌ناخنک با اختلاف معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) بیشتر بود. (نمودار ۷).

دردی در دوز  $300 \text{ mg/kg}$  می‌تواند به دلیل اثرات غیر فارماکولوژیک یا سمی عصاره باشد (۸). مقایسه اثر ضد دردی عصاره سوکسله با پرکوله در دوز  $200 \text{ mg/kg}$  به روش Tail flick نشان می‌دهد که دوز سوکسله در زمان‌های ۳۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق مؤثرتر عمل کرده است. بنابراین این عصاره‌گیری به روش سوکسله و توسط متانول ۸۰ درصد در صورت بهتری برای استخراج مواد مؤثره‌ای است که باعث ایجاد بی‌دردی می‌شوند و احتمالاً ماده مؤثره گیاه وسیله حرارت بهتر استخراج می‌شود. این یافته با یافته‌های قبلی در تحقیقات مشابه مطابقت دارد (۷) و همچنین با واقعیت‌های علمی مبنی بر این که عصاره‌گیری از اندام‌های سخت گیاهی به روش سوکسله مناسبتر است نیز همخوانی دارد (۱۱، ۴). A.S.A. و مرفین به دلیل این که هر دو به عنوان ضد درد در بازار

نیز به عنوان آرام‌کننده و ضد اضطراب به کار می‌رود (۲، ۹، ۱۲). در این آزمایش اثرات ضد دردی عصاره متانولی ناخنک که به روش‌های پرکوله و سوکسله تهیه شده، در موش سوری نر با آزمون‌های Tail flick و فرمالین بررسی شده است. این مطالعه نشان داد که اگر میوه گیاه ناخنک با روش سوکسله توسط متانول ۸۰ درصد عصاره‌گیری شود، قادر است در دوزهای مختلف، اثرات ضد دردی قابل توجهی ایجاد کند. این عصاره در تمامی دوزهای تزریق شده قادر به ایجاد پاسخ ضد دردی است و اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه شاهد ایجاد می‌کند (۰/۰۱)P. دوز  $200 \text{ mg/kg}$  دارای بیشترین اثر ضد دردی بوده و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق بیشترین اثر ضد دردی را نشان داده است (۰/۰۱)P. به نظر می‌رسد که دوز  $200 \text{ mg/kg}$  قادر به ایجاد غلظت خونی کافی برای ایجاد حداکثر اثر ضد دردی می‌باشد (۶، ۷، ۸). کاهش اثر ضد



کار آیی عصاره نسبتاً خوب است. مقایسه همین دوز عصاره با A.S.A نشان داده است که عصاره ناخنک نظیر A.S.A قادر به مهار فاز دوم درد می باشد. درد ایجاد شده در آزمایش فرمالین دارای دو فاز مشخص است که فاز اول احتمالاً نتیجه تحریک مستقیم گیرنده های درد در پنبه پای حیوان می باشد و فاز مرکزی است در حالی که در فاز دوم درد تا حد زیادی ناشی از فرآیند التهاب است (۱۴). هر چند نقش حساس شدن مسیرهای مرکزی درد را نیز نباید از نظر دور داشت.

این آزمایش برای بررسی مکانیسم درد و مواد ضد درد نیز بسیار مفید می باشد. داروهایی مانند ضد دردهای مخدر که اغلب به طور مرکزی عمل می کنند هر دو فاز درد ایجاد شده توسط فرمالین را مهار می نمایند در حالی که داروهایی مانند A.S.A، هیدرو کورتیزون و دگزامتازون که به صورت ترجیحی در محیط عمل می کنند، تنها درد فاز دوم آزمایش

دارویی ایران موجود هستند، برای مقایسه با اثر ضد دردی عصاره استفاده گردیدند. در مقایسه  $200\text{mg/kg}$  عصاره سوکسله با  $300\text{mg/kg}$  A.S.A و  $2/5\text{mg/kg}$  مرفین در روش Tail-Flick عصاره ناخنک در اغلب زمان های پس از تزریق اختلاف معنی داری نسبت به مرفین نداشت و در سه زمان اثر بهتری از خود نشان داد و از آنجا که مرفین شاهد مثبت است، هر قدر اختلاف با مرفین کمتر باشد بیانگر این است که اثر ضد دردی عصاره بیشتر بوده و به مرفین نزدیک تر است (۷،۱). البته باید توجه داشت که حداقل دوز مرفین برای ایجاد اثر ضد دردی، دوز  $2/5\text{mg/kg}$  است ولی عصاره ناخنک با دوز  $200\text{mg/kg}$  دارای بیشترین اثر ضد دردی است که با دوز  $2/5\text{mg/kg}$  مرفین قابل مقایسه است. با توجه به این که این عصاره به صورت تام استفاده شده است لذا تفاوت مشاهده شده دور از انتظار نیست و

در آزمون Tail-Flick، تقریباً در همه دوزها، بیشترین اثر ضد دردی ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق عصاره، ایجاد می‌شود که این زمان رسیدن به حداکثر غلظت خونی ماده مؤثره یا متابولیت‌های آن است (۶). در این آزمون در زمان‌های ۴۵ و ۶۰ دقیقه نیز عصاره دارای اثر ضد دردی خوبی است که در زمان ۹۰ دقیقه این اثر کاهش یافته و پس از آن در دقیقه ۱۲۰ افزایش نشان می‌دهد. کاهش اثر ضد دردی در دقیقه ۹۰، احتمالاً به علت متابولیزه شدن ماده مؤثره می‌باشد و افزایش در دقیقه ۱۲۰ می‌تواند به علت تولید متابولیت‌های فعال باشد (۶) که قابل بررسی است. با توجه به این که اثر ضد دردی عصاره در فاز دوم آزمون فرمالین قابل توجه بوده است و با توجه به این که فاز دوم درد در آزمون فرمالین ناشی از روند التهابی است (۲۶، ۲۷) لذا احتمال این که عصاره بر آنزیم سیکلواکسیژناز اثر مهارتی داشته باشد، وجود دارد و همچنین احتمال

فرمالین را مهار می‌کنند (۱۴). لذا با توجه به نتایج حاصل می‌توان اثر ضد التهاب را برای عصاره پیشنهاد کرد. در آزمون فرمالین، تزریق دوز مؤثر ۲۰۰ mg/kg عصاره سوکسله نشان داد که این عصاره قادر نیست فاز اول درد (۵ دقیقه اول) را مهار کند ولی فاز دوم درد را مهار می‌کند بنابراین می‌توان گفت که عصاره به طور مرکزی عمل نکرده و اثر ضد دردی خود را از طریق محیطی اعمال می‌کند. در آزمون فرمالین با توجه به این که A.S.A به طور محیطی عمل می‌کند، بر فاز دوم درد مؤثر است. اما مرفین به طور مرکزی عمل می‌کند ولی اغلب هر دو فاز را مهار می‌کند و با مقایسه دوز مؤثر ۲۰۰ mg/kg عصاره سوکسله با مرفین و A.S.A مشاهده شد که عصاره مشابه با A.S.A عمل کرده است و این مدرکی بر تأیید یافته‌های قبلی مبنی بر عملکرد محیطی عصاره می‌باشد.

درد است. البته استفاده از آن به عنوان یک داروی تسکین دهنده درد، نیاز به اطلاعات بالینی بیشتری دارد. علاوه بر این، مواد مؤثره‌ای که احتمالاً ایجاد بی‌دردی می‌کنند و نحوه عمل آنها و همچنین سمیت آنها هنوز ناشناخته است که زمینه تحقیق بیشتری را می‌طلبد. با توجه به این که گیاه ناخنک در اغلب نقاط کشور ما می‌روید و تقریباً می‌توان گفت که بومی ایران است (۲۵)، بنابراین برای تحقیق و بررسی بسیار مناسب بوده و به راحتی در دسترس است. باید مطالعات بیشتری برای شناخت مکانیسم و اثرات ضد دردی و بررسی خواص فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک عصاره گیاه صورت گیرد تا شاید بتواند به صورت یک شکل دارویی، فرموله شده و به بازار دارویی عرضه گردد.

سپاسگزاری

بروز عوارض گوارشی نیز وجود دارد. به این منظور آزمون زخم‌زایی (اولسروژنیستی) انجام شد. در این آزمون مشخص شد که اثر زخم‌زایی عصاره نسبت به دوز مشابه ایندومتاسین خیلی کمتر است. با توجه به این یافته مشخص می‌شود که عارضه گوارشی عصاره گیاه ناخنک خیلی کمتر از ایندومتاسین است و به عنوان یک امتیاز مثبت برای این گیاه به حساب می‌آید.

از آن جا که اثر ضد دردی این عصاره در هیچ کدام از فازهای درد حاد و مزمن توسط نالوکسان ممانعت نشد، این تصور قوت می‌گیرد که سیستم اپیوئیدی احتمالاً در بی‌دردی ایجاد شده توسط عصاره نقشی ندارد.

در خاتمه می‌توان نتیجه‌گیری کرد که عصاره ناخنک می‌تواند به عنوان یک داروی ضد درد مطرح باشد و نتایج این تحقیق یک مدرک علمی در تأیید ادعاهای مردم در مصارف سنتی آن به عنوان ضد

*In traditional medicine, Some plants are used as analgesic. The aim of this investigation was to evaluate the analgesic effect of "Melilotus Officinalis", which is used traditionally to relieve rheumatic pain, migraine and as anti-inflammatory agent. For this purpose different doses of the supercritical and percolated extract of melilotus officinalis, were injected intraperitoneally to mice and the analgesic effect was determined by tail flick and formalin tests. The results showed that, supercritical methanolic extract with doses of 50, 100, 200 and 300 mg/kg induced significant analgesia effect in comparison with the control group ( $P < 0.01$ ). The maximum analgesic effect was observed in 200 mg/kg which reached to its peak at 120 min after injection ( $P < 0.01$ ). Analgesic effect of supercritical extract was higher than percolated one. Pretreatment of animals with*

از زحمات خانم کرمی نژاد و خانم  
عظیمی و آقای وفازاده که در تهیه این  
مقاله همکاری نموده‌اند، صمیمانه تشکر و  
قدردانی می‌شود.

### **Summary**

**Analgesic and Ulcerogenic Effect of Methanolic Extract of Melilotus Officinalis**  
MR. Heidari, PhD.1., F. Najafi, Pharm D2., A. Asadi pour, PhD3., M. Ansari, PhD4., MJ. Zahedi, MD5. and M. Vahedian, MD.6.  
1. Associate Professor of Pharmacology & Toxicology, School of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences and Health Services  
2. Pharmacist  
3. Assistant Professor of Pharmaceutical Chemistry,  
4. Instructor, School of Pharmacy,  
5. Assistant Professor of Internal Medicine,  
6. Assistant Professor of General Surgery, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran

- ایران، ۱۳۷۲، جلد ۱، شماره ۲، پاییز و زمستان، ص ۱۲۷-۱۲۳.
۲. امین، غلامرضا: گیاهان دارویی سنتی ایران. انتشارات معاونت پژوهشی وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی، جلد اول، چاپ فرهنگ، ۱۳۷۰، ص ۱۳۳.
۳. آئینه چی، یعقوب: مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران. انتشارات دانشگاه تهران، چاپ دوم، ۱۳۷۰، ص ۲۰۰ و ۳۳۴ و ۱۰۴۰ و ۱۰۷۹.
۴. آئینه چی، یعقوب: روش‌های نوین تجزیه شیمیایی گیاهان. انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۵۸، ص ۱-۳۵.

۵. پویان، محمد: گیاهان دارویی جنوب خراسان. جلد اول و دوم، چاپ اول، نشر دانش، ۱۳۶۸، ص ۷۹.

*naloxane did not change the analgesic effect of the extract, therefore the involvement of opioid receptors was excluded in this respect. The ulcerogenicity test showed that the ulcerogenic effects of the extract was lower than that of the same dose of indomethacine. Overall the results indicated that the extract of the plant had analgesic effect.*

*Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2001; 8(4): 210-219*  
**key words:** Medicinal Plants, *Melilotus Officinalis*, Pain Measurement

#### منابع

۱. احمدیانی، ابوالحسن؛ سمنانیان، سعید و فریدونی، مسعود: مهار درد حاد و مزمن با عصاره الکلی ریزوم گیاه آقطی در موش صحرائی. مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی

۶. حسن زاده خیاط، محمود رضا: بیوفارماسی و کیتیک داروها. انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ۱۳۷۱، ص ۲۴۰.
۷. حیدری، محمودرضا، دادوند، احسان و جلالی، سمیرا: بررسی اثر ضد دردی عصاره متانولی کلپوره در موش سوری به دو روش Tail flick و فرمالین. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۱۳۷۸، دوره ششم، شماره ۲، ص ۷۶-۶۷.
۸. حیدری، محمودرضا؛ شریفی فر، فریبا؛ اورنگی، بهروز و سلمانی بفری، محسن: بررسی اثر ضد دردی عصاره هیدروالکلی زنجبیل و فلفل سیاه به روش Tail-Flick در موش سوری. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۱۳۷۶، دوره چهارم، شماره ۳، ص ۱۱۳-۱۰۷.
۹. زرگری، علی: گیاهان دارویی. جلد اول، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۶۸، ص ۶۲۳-۶۱۹.
۱۰. صمصام شریعت، سیدهادی؛ افشاری پور، صادق و معطر، فریبرز: درمان با گیاه و مبنای نسخه پیچی گیاهی. چاپ سوم، ۱۳۶۶، ص ۲۰۶ و ۲۰۸.
۱۱. صمصام شریعت، سیدهادی: عصاره گیری و استخراج مواد مؤثره گیاهان دارویی و روش های شناسایی و ارزشیابی آنها. انتشارات مانی، ۱۳۷۱، ص ۲۱-۱۰.
۱۲. صمصام شریعت، سیدهادی: پرورش و تکثیر گیاهان دارویی. انتشارات مانی، چاپ اول، ۱۳۷۴، ص ۴۰۹ و ۴۱۰.
۱۳. میرحیدر، حسین: گنجینه اسرار گیاهان. جلد اول، انتشارات وحید، چاپ اول، ۱۳۶۳، ص ۱۹۲.

گیاه. ترجمه: ساعد، زمان: انتشارات  
ققنوس، چاپ اول ۱۳۷۰، ص ۲۳۰.  
۱۶. هاربون، ج.ب: روش های نوین  
تجزیه شیمیایی گیاهان. ترجمه:  
آئینه چی، یعقوب: انتشارات  
دانشگاه تهران، ۱۳۵۸، ص ۶، ۷،  
۲۴۴ و ۲۴۵.

۱۴. واعظ مهدوی، محمدرضا:  
دیباچه ای بر روش شناسی مطالعات  
و پژوهش های درد. مرکز چاپ و  
انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۷۴،  
ص ۸، ۹، ۱۳، ۱۴.  
۱۵. والاگ، ژان و استودولار،  
ژیری: گیاهان دارویی، روش های  
کشت، برداشت و شرح مصور ۲۵۶

17. Abbott FV, Melzack R  
and Samuel C. Morphine

Analgesia in Tail flick and  
Formalin pain tests is  
mediated by different  
neural systems. *Exp  
Neurol* 1982; 75(3): 644-  
651.

18. Biswas AR,  
Ramaswamy S and Bapna  
JS. Analgesic effect of  
Momordica charantia seed  
extract in mice and rats. *J  
Ethnopharmacol* 1991;  
31(1): 115-118.

19. Dehpour AR, Mani AR,  
Amanlou M, Nahavandi A,  
Amanpour S and Bahadori

M. Naloxone is protective  
against Indomethacin  
induced gastric damage in  
cholestatic rats. *J  
Gastroenterol* 1999; 34(2):  
178-181.

20. Dehpour AR, Mani AR,  
Alikhani Z et al.

Enhancement of aspirin  
induced gastric damage by  
cholestasis in rats. *Fundam  
Clin Pharmacol* 1998;  
12(4): 442-445.

21. Elisabetsky E and  
Castilhos ZC. Plants used  
as analgesics by  
Amazonian caboclos as a  
basis for selecting plants

- for investigation. *Int J Crude Drug Res* 1990; 28(4): 309-320.
22. Heidari MR, Khalili F, Ghazi-Khansari M, Hashemi B and Zarrindast MR. Effect of picrotoxin on antinociception in the formalin test. *Pharmacol Toxicol* 1996; 78(5): 313-316.
23. James A. Duke CRC. Handbook of Medicinal Herbs, Boca Raton, Florida, CRC Press Inc 1985; 305.
24. Murray MI and Brater DC. Renal toxicity of the nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1993; 33: 435-465.
25. Rechinger K.H: Flora Iranica. Austria 1984; PP199-206.
26. Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H and Inoki R. Modified Formalin test: Characteristic biphasic pain response. *Pain* 1989; 38(3): 347-352.
27. Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH and Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain* 1992; 51(1): 5-17.