

مقایسه اثر ضددرد صمغ کتیرا با مورفین و دیکلوفناک در موش سفید کوچک آزمایشگاهی با استفاده از آزمون‌های قد کشیدن و صفحه داغ

نویسندگان: لیلا کیهانی^۱، محمد ابراهیم رضوانی^{۲*}، محمد حسین دشتی رحمت آبادی^۳

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد - دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، گروه زیست‌شناسی، فارس، ایران

۲. استادیار - گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ایران

۳. دانشیار - گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ایران

* نویسنده مسئول: محمد ابراهیم رضوانی
E-mail: erezvani@yahoo.com

چکیده

مقدمه و هدف: یکی از داروهای گیاهی برای کنترل درد در طب سنتی، صمغ کتیرا بوده است. هدف از این پژوهش، بررسی اثر ضددردی صمغ کتیرا است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، اثر ضددردی صمغ کتیرا به وسیله آزمون‌های صفحه داغ (Hotplate) و قد کشیدن (writhing) بررسی شد. موش‌های سوری نر در سه گروه دریافت‌کننده کتیرا با دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن، سه گروه دریافت‌کننده مورفین با دوزهای ۰.۲، ۰.۴ و ۰.۸ میلی‌گرم و سه گروه دریافت‌کننده دیکلوفناک با دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن تقسیم شدند.

نتایج: در آزمون قد کشیدن دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم صمغ کتیرا باعث کاهش تعداد انقباض‌های شکمی و افزایش درصد مهار درد نسبت به گروه کنترل و در دوز ۵۰۰ نسبت به دیکلوفناک ۱۰ mg/kg شد ($P < 0.05$). با بررسی زمان واکنش حیوانات به درد در آزمون صفحه داغ، طی دوره‌های زمانی ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه، تنها در ۱۵ دقیقه پس از تزریق صمغ کتیرا، دوزهای ۱۲۵ $\mu\text{g/kg}$ و ۱۲۵ $\mu\text{g/kg}$ درد را کاهش دادند. در ۱۵ دقیقه پس از تزریق، کتیرای ۱۲۵ $\mu\text{g/kg}$ نسبت به گروه‌های کنترل، دیکلوفناک ۳۰ mg/kg، مورفین ۲ و ۴ تفاوتی معنی‌دار داشته است ($P < 0.001$).

نتیجه‌گیری: در این پژوهش، اثر ضددردی قابل‌ملاحظه‌ای از صمغ کتیرا در آزمون‌های صفحه داغ و قد کشیدن مشاهده شد که نشان می‌دهد، ترکیب‌های تشکیل‌دهنده این صمغ دارای آثار ضددرد حاد و مزمن هستند.

واژگان کلیدی: صمغ کتیرا، دیکلوفناک، مورفین، ضددرد، آزمون قد کشیدن، آزمون صفحه داغ

دریافت: ۹۱/۸/۱

آخرین اصلاح‌ها: ۹۱/۱۰/۲۰

پذیرش: ۹۱/۱۱/۹

مقدمه

یکی از داروهای گیاهی در طب سنتی، صمغ کتیرا بوده است که برای درمان درد کلیه، مثانه و زخم‌های مجاری ادرار و سوزش آن مفید بوده؛ علاوه بر این از صمغ کتیرا به عنوان پادزهر سموم و برای برطرف کردن ناراحتی‌های چشم و مسکن دردهای چشم استفاده می‌شده است (۱ و ۲)؛ این گیاه به طور گسترده در سراسر مناطق معتدل جهان از قبیل اروپا، آسیا و شمال آمریکا و همچنین در مناطق کوهستانی آفریقا و آمریکای جنوبی یافت می‌شود (۳)؛ این گروه از گیاهان چند ساله، درختچه‌ای یا بوته‌ای است و به صورت ایستاده یا گسترده در سطح خاک قرار دارد. جنس گون (*Astragalus L.*) به عنوان بزرگ‌ترین جنس خانواده Leguminosae، زیرخانواده Papilionideae و متعلق به تبار Galegeae است (۴). در ساقه بعضی از نمونه‌های بوته مانند گون، نوعی ماده صمغی ساخته می‌شود که خودبه خود یا بر اثر شکاف به خارج ترشح می‌شود؛ این ماده به سهولت خشک شده، پس از گردآوری، با نام «کتیرا» به بازار عرضه می‌شود (۱). کتیرا یا گام تراگاکانت Gum tragacanth به تراوش‌های صمغ مانند گیاه آستراگالوس گومی فر *Astragalus Gummifer* و دیگر گونه‌های آسیایی آستراگالوس اطلاق می‌شود (۵). صمغ کتیرا دارای ترکیب‌هایی بسیار مانند عناصر معدنی نظیر کلسیم، پتاسیم و منیزیم و در ترکیب پروتئینی کتیرای گونه‌های مختلف آستراگالوس اسید آمینه‌هایی از جمله هیدروکسی پرولین، هیستیدین، اسید اسپاریک، آرژینین، پرولین، والین و سرین یافت شده است و هیدروکسی پرولین، هیستیدین و سرین با مقادیر بالا وجود دارد (۶، ۷ و ۸). این صمغ به صورت گسترده در صنایع غذایی، سس‌ها، نوشیدنی‌ها و شیرینی‌ها کاربرد دارد. صمغ کتیرا در تهیه بستنی برای حفظ بافت آن استفاده می‌شود (۹). در داروسازی این صمغ به عنوان ژل‌ساز، معلق‌ساز و چسباننده در تهیه قرص‌ها و داروها و ریزپوشانی مواد مختلف مانند ویتامین‌ها و عطر و طعم استفاده می‌شود همچنین به دلیل ویژگی امولسیون‌کننده، برای معلق

نگهداشتن پودرهای دارویی غیرمحلول در آب به کار می‌رود (۱۰، ۱۱).

استفاده از داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی NSAIDs یا داروهای اویپوئیدی، روش‌های رایج کنترل دردند که همواره با عوارض جانبی به نسبت زیادی همراهند؛ برای نمونه، داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی باعث ایجاد اختلال‌هایی در دستگاه گوارش (GI)، آسیب‌های کلیوی و واکنش‌های افزایش حساسیتی می‌شوند؛ اویپوئیدها نیز می‌توانند به ایجاد تهوع، یبوست، بهت و ضعف تنفسی منجر شود و در صورت مصرف مزمن، وابستگی ایجاد کنند (۱۲). داروهای اویپوئیدی به ویژه مورفین برخلاف تأثیر خوبی که در کنترل درد دارند، به دلیل ایجاد تحمل مصرف آنها در درازمدت با کاهش تأثیر روبه‌رو خواهند شد. داروهای ضد-التهاب استروئیدی هم در درازمدت آثار و پیامدهای نامطلوب بر دستگاه گوارش و کلیه‌ها برجای می‌گذارند (۱۳ و ۱۴)؛ به همین دلیل، استفاده از گیاهان دارویی در کنترل درد مورد توجه بشر قرار گرفته است.

از آنجاکه به‌رغم استفاده از صمغ کتیرا در طب سنتی به عنوان مسکن، مطالعه‌ای در زمینه بررسی اثر ضددردی آن موجود نبود و در بررسی منابع علمی، اطلاعاتی در خصوص اثر ضددردی آن یافت نشد، هدف این مطالعه، بررسی آثار ضددردی صمغ این گیاه در دو مدل آزمایشگاهی ارزیابی درد و نیز ارائه مدرکی علمی در خصوص مصرف سنتی این گیاه است. در مطالعه حاضر، اثر کتیرا بر درد حاد با آزمون صفحه داغ و بر درد مزمن با استفاده از آزمون قد کشیدن در موش سوری که دو روش تأیید شده جهانی ارزیابی درد هستند، بررسی شد و با اثر مورفین و دیکلوفناک به عنوان مسکن‌های شناخته شده مقایسه شد.

مواد و روش‌ها

حیوانات و گروه‌ها: در این مطالعه، تعداد ۱۰۰ سر موش سفید کوچک آزمایشگاهی نر با وزن ۲۵ تا ۳۰ گرم از بخش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده پزشکی شهید

صمغ بود، با آب مقطر به ترتیب به حجم‌های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌لیتر رسانده شد تا دوزهای ۵۰۰، ۲۵۰ و ۱۲۵ میکروگرم در هر ۱۰ میلی‌لیتر به دست آمد.

آزمون قدکشیدن (writhing Test)

آزمون قدکشیدن به عنوان مدل ایجاد درد احشایی در مطالعات آزمایشگاهی به کار می‌رود. در این آزمون به هریک از گروه‌ها ۱۵ دقیقه پس از تزریق ماده مورد نظر، از اسید استیک ۰/۶ درصد با دوز ۱۰ ml/kg به صورت درون صفاقی استفاده شد؛ سپس هر موش به یک جعبه پلاستیکی شفاف از جنس پلی اتیلن به ابعاد ۳۰×۳۰×۳۵ منتقل و بلافاصله پس از آن، تعداد انقباض‌های شکمی (تعداد رایت‌ها) در مدت زمان ۳۰ دقیقه با Counter شمارش و ثبت شد؛ در ضمن یک رایت با انقباض‌های شکمی و عضلات پهلوها همچنین کشیدن دست کم یکی از اندام‌های حرکتی خلفی، رفلکس پنجه‌های عقبی یا کشیدگی کل بدن اندازه‌گیری شد؛ درد احشایی چند ثانیه طول کشیده، قابل مشاهده بود؛ این مدل ایلئوس معدوی - روده‌ای نیز ایجاد می‌کرد (۱۵ و ۱۶).

میانگین تعداد انقباض‌های شکمی گروه کنترل منهای میانگین تعداد انقباض‌های شکمی گروه درمانی تقسیم بر میانگین تعداد انقباض‌های شکمی گروه کنترل ضرب در ۱۰۰ (۱۷).

دست کم دو هفته پس از آزمون قدکشیدن، حیوانات با همان گروه‌بندی پیشین برای آزمون صفحه داغ استفاده می‌شوند.

آزمون صفحه داغ (Hot plate Test)

صفحه داغ وسیله‌ای است که برای سنجش حساسیت موش نسبت به درد، مورد استفاده قرار می‌گیرد؛ این دستگاه شامل یک صفحه به قطر ۱۹ سانتی‌متر و دیواره‌ای از جنس پلکسی گلاس به ارتفاع ۲۱ سانتی‌متر است؛ صفحه از طریق مقاومت الکتریکی داغ می‌شود و به زمان‌سنج و ترموستات مجهز است (۱۸ و ۱۹)؛ پیش از شروع آزمایش، دمای دستگاه در حد ۵۲/۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم می‌شود و هم‌زمان با قراردادن حیوان در

صدوقی یزد انتخاب شده، تحت شرایط طبیعی با درجه حرارت 21 ± 2 و سیکل تاریکی و روشنایی ۱۲ ساعته و دسترسی آزاد و کافی به آب و غذا در قفس‌های استاندارد نگهداری شدند. کنترل دما و تنظیم روشنایی به صورت الکترونیکی در اتاق حیوانات انجام شد. در هر گروه آزمون ۱۰ سر موش سوری وجود داشت که هر حیوان ۳۰ دقیقه پیش از انجام آزمایش به آزمایشگاه منتقل می‌شد تا به محیط آشنا شود؛ در این مطالعه، موش‌ها به ده گروه ده‌تایی تقسیم شدند. گروه کنترل که آب مقطر به میزان ۱۰ ml/kg دریافت کردند و گروه‌های کنترل که کتیرا در دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰ یا ۵۰۰ میکروگرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند؛ سه گروه دریافت‌کننده مورفین با دوزهای ۲، ۴ یا ۸ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم و سه گروه دیگر، دیکلوفناک با دوزهای ۱۰، ۲۰ یا ۳۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم به‌عنوان شاهد دریافت کردند. تمام تزریقات بالا، ۱۵ دقیقه پیش از شروع آزمون‌ها و با حجم ۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن و به صورت داخل صفاقی (IP) انجام می‌شد.

جمع‌آوری صمغ کتیرا: صمغ کتیرا از گیاه گونه *Astragalus gummifer* جمع‌آوری شد، به این صورت که ابتدا اطراف ساقه گون، خالی و سپس با تیغ‌های مخصوص، برشی موازی با ساقه ایجاد شد؛ صمغ کتیرا پس از چند روز به‌مرور بر اثر برش به بیرون تراوش کرده، در معرض نور آفتاب، درصد مهار در هریک از گروه‌ها با استفاده از فرمول زیر به دست آمد:

$$\text{Inhibition} = \frac{\text{mean number of writhing}(\text{control}) - \text{mean number of writhing}(\text{test})}{\text{mean number of writhing}(\text{control})}$$

آب خود را از دست داد و سفت شد؛ پس از این مراحل با حضور کارشناس نسبت به جمع‌آوری آن اقدام شد و به تأیید کارشناس مرکز تحقیقات گیاهان دارویی یزد رسید؛ سپس مقدار ۵ میلی‌گرم از صمغ با ترازوی دیجیتال ۴ صفر (Sartorius ساخت آلمان) وزن و در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به‌طور کامل، حل شد؛ هر میلی‌لیتر از این محلول استوک که حاوی ۵۰۰ میکروگرم

کاهش تعداد انقباض‌های شکمی و افزایش درصد مهار درد در دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل شد ($P < ۰/۰۰۰۱$) که حداکثر تأثیر با دوز ۵۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم مشاهده شد ($P < ۰/۰۰۰۱$). با افزایش مقادیر دوز کتیرا همراه با کاهش میزان انقباض‌های شکمی، درصد مهار درد افزایش یافت و این به لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۰۰۱$)؛ همچنین گروه‌های دریافت‌کننده دوز ۵۰۰ $\mu\text{g/kg}$ کتیرا، ۲ mg/kg ، ۴ mg/kg ، ۸ mg/kg و دیکلوفناک ۳۰ mg/kg نسبت به گروه دیکلوفناک ۱۰ mg/kg تفاوت معنی‌داری در تعداد انقباض‌های شکمی و درصد مهار درد داشته‌اند ($P < ۰/۰۵$).

طبق جدول ۲ مدت زمان پاسخ درد در آزمون صفحه داغ در زمان صفر (پیش از تزریق مواد) تفاوتی معنی‌داری با یکدیگر نداشته، بنابراین حیوانات در گروه‌های مختلف از نظر آستانه درد همگن بودند ($P > ۰/۰۵$). در ۱۵ دقیقه پس از تزریق، گروه کتیرای ۱۲۵ $\mu\text{g/kg}$ نسبت به گروه‌های کنترل، دیکلوفناک ۳۰ mg/kg ، مورفین ۴ mg/kg تفاوتی معنی‌دار داشته‌است ($P < ۰/۰۰۱$ Pa, c, g)؛ همچنین گروه‌های دریافت‌کننده دوز کتیرای ۵۰۰ $\mu\text{g/kg}$ و ۱۲۵ $\mu\text{g/kg}$ نسبت به گروه مورفین ۲ mg/kg نیز تفاوتی معنی‌دار داشته‌اند ($P < ۰/۰۰۰۱$).

با بررسی زمان واکنش حیوانات به درد، طی دوره‌های زمانی ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰ با اختلاف ۱۵ دقیقه در مجموع، در ۱۵ دقیقه پس از تزریق دوزهای مورد استفاده از صمغ کتیرا، دوزهای ۱۲۵ $\mu\text{g/kg}$ و ۵۰۰ $\mu\text{g/kg}$ درد را کاهش دادند و زمان پاسخ به درد دوز ۱۲۵ $\mu\text{g/kg}$ نسبت به ۵۰۰ $\mu\text{g/kg}$ بیشتر بوده‌است اما گروه کتیرای ۲۵۰ $\mu\text{g/kg}$ با سایر گروه‌ها تفاوتی معنی‌دار نداشته‌است ($P > ۰/۰۵$).

ج- درصد حداکثر تحمل درد ممکن یا Maximum Possible Effect (% MPE)

نتایج نشان داد که درصد حداکثر تحمل درد ممکن مربوط به اثر ضددرد صمغ کتیرا در مقابل حرارت تنها در ۱۵ دقیقه بعد از تزریق در دوزهای ۱۲۵ $\mu\text{g/kg}$ و ۵۰۰ $\mu\text{g/kg}$ (شکل ۱) القاشده‌است و دوز کتیرای ۱۲۵ $\mu\text{g/kg}$ بیشترین اثر ضددرد را نشان می‌دهد و درصد

دستگاه، کلید زمان‌سنج زده می‌شود حیوان با گرم شدن پاها و احساس درد

$$MPE = \frac{\text{Test latency}(\text{sec}) - \text{Baseline}(\text{sec})}{\text{Cut Off}(\text{sec}) - \text{Baseline}(\text{sec})} \cdot 100$$

شروع به لیسیدن پاهای جلویی یا پرش می‌کند؛ در این لحظه با فشردن کلید و خاموش کردن تایمر، زمان تحمل درد یا بی‌دردی ثبت می‌شود. در صورت عدم واکنش حیوان در برابر درد، بعد از ۲۵ ثانیه، آزمایش را خاتمه داده (Cut off) حیوان را از صفحه داغ برمی‌داریم (۱۹ و ۲۰)؛ در این آزمون، هر حیوان، پیش از تزریق و همچنین در زمان‌های ۱۵؛ ۳۰؛ ۴۵ و ۶۰ دقیقه پس از دریافت تزریق ماده مورد نظر، روی صفحه داغ قرار می‌گیرد و مدت زمان تأخیر در پیدایش پاسخ درد هر حیوان (برحسب ثانیه) در هر یک از زمان‌های پنج‌گانه در جدول ثبت می‌شود.

از داده‌های به دست آمده و به کمک رابطه زیر، حداکثر تحمل درد ممکن برای هر حیوان در چهار مقطع زمانی پس از تزریق محاسبه شده، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار می‌گیرد:

که در آن MPE (Maximum Possible Effect) نشان‌دهنده حداکثر تحمل درد ممکن، Baseline و Test latency به ترتیب به معنی زمان تأخیر پیش و بعد از تزریق و Cut off حداکثر زمان مجاز قرار دادن موش روی دستگاه (۲۵ ثانیه) است (۲۱ و ۲۲).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این پژوهش، نتایج با استفاده از نرم‌افزار PRISM و Graphpad و آزمون‌های به کارگیری روش‌های آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون توکی (Tukey) تجزیه و تحلیل شد و $p < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌های شدت درد در نظر گرفته شد.

نتایج

الف- اثر تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف صمغ کتیرا بر درد در آزمون قد کشیدن
بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، صمغ کتیرا باعث

حداکثر تحمل درد آن نسبت به گروه کنترل و دوزهای مورفین سولفات ۲ mg/kg و ۴ mg/kg اختلافی معنی دار
 دارد که به ترتیب (P<۰/۰۱)، (P<۰/۰۵) است؛ همچنین گروه کتیرای ۵۰۰ μg/kg

جدول شماره ۱. اثر ضددردی صمغ کتیرا بر انقباض های شکمی ناشی از اسید استیک در موش سوری

درصد مهار	تعداد انقباض های شکمی میانگین ± انحراف معیار	گروه های مورد مطالعه
-	۱۰۶/۴±۱۲/۵	کنترل
۳۴/۸ ^a	۶۹/۳±۱۵/۶ ^a	دیکلوفناک ۱۰ mg/kg
۴۵/۱ ^a	۵۸/۴±۱۶/۵ ^a	دیکلوفناک ۲۰ mg/kg
۶۶/۳ ^{a,e}	۳۵/۸±۱۷/۷ ^{a,e}	دیکلوفناک ۳۰ mg/kg
۴۷/۳ ^a	۵۶/۲±۱۶ ^a	کتیرا ۱۲۵ μg/kg
۴۹/۶ ^a	۵۳/۶±۹/۵ ^a	کتیرا ۲۵۰ μg/kg
۵۳/۷ ^{a,e}	۴۹/۲±۱۲/۴ ^{a,e}	کتیرا ۵۰۰ μg/kg
۷۱/۰ ^{a,e}	۳۰/۸±۱۲/۷ ^{a,e}	مرفین ۲ mg/kg
۷۶/۳ ^{a,e}	۲۵/۳±۶/۲ ^{a,e}	مرفین ۴ mg/kg
۹۷/۳ ^{a,e}	۳±۰/۸ ^{a,e}	مرفین ۸ mg/kg

جدول شماره ۲. اثر ضددردی صمغ کتیرا در موش سوری با آزمون صفحه داغ در زمان های مختلف

گروه های مورد مطالعه	۰	۱۵	۳۰	۴۵	۶۰
کنترل	۱۰/۷±۳/۲	۱۲/۱±۲/۴	۱۰/۰±۲	۱۰/۲±۲/۰	۱۰/۱±۲/۴
کتیرا ۵۰۰ μg/kg	۹/۱±۳/۳	۱۸/۳±۵ ^b	۱۲/۱±۱/۹	۹/۷±۳/۲	۱۰/۹±۲/۶
کتیرا ۲۵۰ μg/kg	۷/۶±۲/۷	۱۲/۱±۴	۹/۶±۱/۶	۷/۱±۱	۷/۴±۱/۵
کتیرا ۱۲۵ μg/kg	۹/۰±۲/۸	۱۹/۶±۸/۱ ^{a,b,c,g}	۹/۳±۲/۳	۱۰/۳±۳/۰	۹/۷±۳/۶
دیکلوفناک ۱۰ mg/kg	۹/۳±۲/۵	۱۴/۴±۴/۴	۹/۱±۳/۰	۸/۴±۲/۴	۷/۶±۲/۰
دیکلوفناک ۲۰ mg/kg	۹/۱±۱/۲	۱۵/۳±۳/۷	۱۰/۶±۳/۵	۹/۳±۳/۳	۸/۴±۲/۵
دیکلوفناک ۳۰ mg/kg	۷/۶±۱/۳	۱۲/۱±۲/۹	۱۲/۱±۳/۸	۸/۴±۱/۷	۸/۳±۲/۱
مرفین ۲ mg/kg	۱۰/۰±۳/۳	۹/۳±۲/۴	۱۲/۹±۳/۲	۱۰/۳±۳/۸	۸/۱±۲/۳
مرفین ۴ mg/kg	۹/۰±۲/۲	۱۲/۱±۳/۹۰	۱۱/۳±۲/۱	۱۰/۱±۱/۸	۸/۹±۲/۷
مرفین ۸ mg/kg	۸/۵±۲	۱۵/۹±۳/۹۰	۱۶/۹±۴/۸	۱۳/۴±۶/۹	۱۶/۸±۵/۵

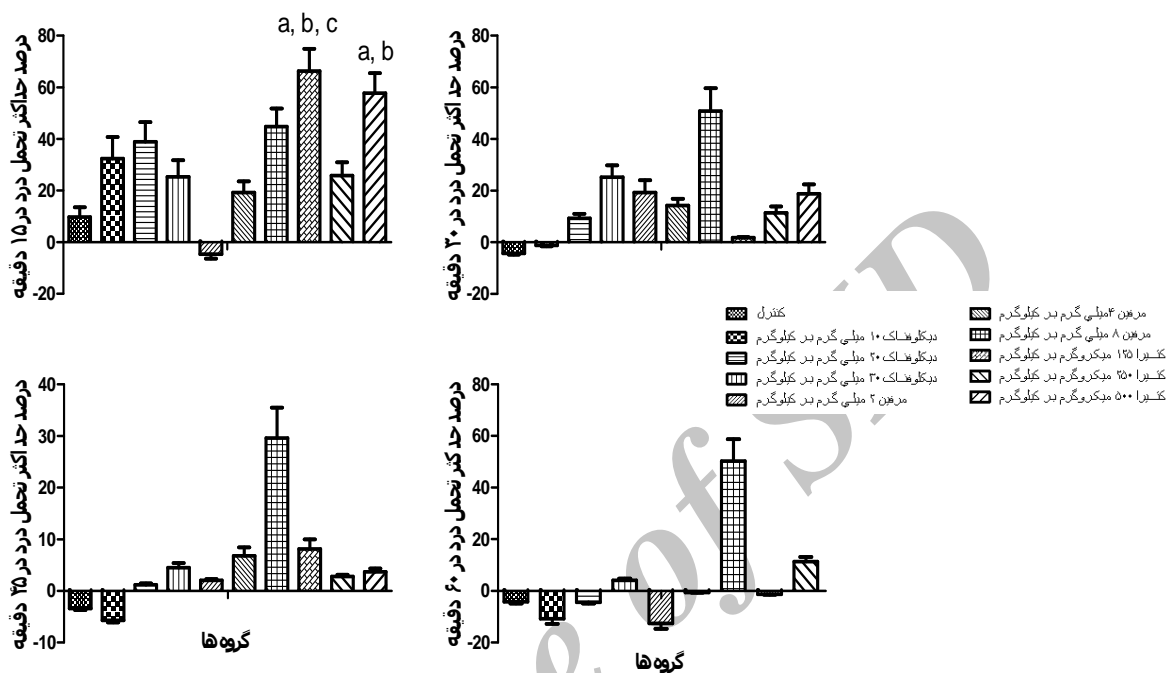
میانگین تعداد انقباض های شکمی و درصد مهار درد در آزمون فدا کشیدن بر حسب گروه های مورد مطالعه مقادیر به شکل میانگین ± انحراف معیار ارائه شده اند. تعداد موش ها در هر گروه ۱۰ سر بود (N=10). a و e بر اساس آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و پس از آزمون Tukey به ترتیب بیانگر اختلاف معنی دار نسبت به گروه کنترل (P < ۰/۰۵) و گروه دیکلوفناک ۱۰ mg/kg هستند. (P < ۰/۰۵)

مدت زمان پاسخ به درد در زمان های صفر (پیش از تزریق)، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰ دقیقه با اختلاف ۱۵ دقیقه در گروه های مختلف

ب- اثر تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف صمغ کتیرا بر درد در آزمون صفحه داغ مقادیر به شکل میانگین ± انحراف معیار ارائه شده اند. تعداد موش ها در هر گروه ۱۰ سر است.

سایر گروه‌ها نداشته‌است ($P > 0/05$). در زمان‌های ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه پس از تزریق هیچ‌یک از گروه‌های دریافت‌کننده دوز کتیرا تفاوتی معنی‌دار با گروه کنترل نداشته‌اند ($P > 0/05$).

نسبت به گروه کنترل و مورفین ۲ mg/kg نیز تفاوتی معنی‌دار را نشان می‌دهد ($P > 0/01$); در مقابل دوز کتیرا ۲۵۰ $\mu\text{g/kg}$ پایین‌ترین درصد حداکثر تحمل درد را پس از ۱۵ دقیقه نشان‌داد و تفاوتی معنی‌دار با



شکل ۱. مقایسه اثر دوزهای مختلف کتیرا بر درصد حداکثر تحمل درد در زمان‌های مختلف پس از تجویز در آزمون صفحه داغ ($n=10$).

a براساس آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون Tuky، بیانگر اختلاف معنی‌دار با $P_a < 0/05$ نسبت به گروه کنترل است.
b براساس آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون Tuky، بیانگر اختلاف معنی‌دار با $P_b < 0/05$ نسبت به گروه مورفین ۲ mg/kg است.
c براساس آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون Tuky، بیانگر اختلاف معنی‌دار با $P_c < 0/05$ نسبت به گروه مورفین ۴ mg/kg است.
d براساس آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون Tuky، بیانگر اختلاف معنی‌دار با $P_d < 0/05$ نسبت به گروه مورفین ۸ mg/kg است.
e براساس آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون Tuky، بیانگر اختلاف معنی‌دار با $P_e < 0/05$ نسبت به گروه دیکلوفناک ۱۰ mg/kg است.
f براساس آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون Tuky، بیانگر اختلاف معنی‌دار با $P_f < 0/05$ نسبت به گروه دیکلوفناک ۲۰ mg/kg است.
g براساس آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون Tuky، بیانگر اختلاف معنی‌دار با $P_g < 0/05$ نسبت به گروه دیکلوفناک ۳۰ mg/kg است.

بحث

آزمون‌های قد کشیدن و صفحه داغ برای بررسی آثار ضد درد مزمن و حاد به کار می‌روند؛ در هر دو نوع آزمون، صمغ کتیرا اثر ضد دردی قابل ملاحظه از خود نشان داد که نشان‌دهنده آن است که ترکیب‌های تشکیل‌دهنده این صمغ دارای اثر ضد درد حاد و مزمن هستند. مطالعات پیشین انجام‌شده روی این صمغ، نشان می‌دهند که اسید آمینه‌هایی مختلف از جمله هیدروکسی پرولین، هیستیدین، اسید اسپاریک و آرژنین در ترکیب کتیرا وجود دارند (۶)؛ علاوه بر این، اسید آمینه‌های دیگری مانند پرولین، والین و سرین نیز در کتیرای گونه‌های مختلف یافت شده‌اند و هیدروکسی پرولین، هیستیدین و سرین با مقادیر بالا وجود دارند (۷ و ۸). از میان ترکیب‌های شیمیایی بالا سرین، هیستیدین، اسید اسپاریک، آرژنین، هیدروکسی پرولین و والین طبق مطالعات متعدد انجام‌شده، ویژگی‌های ضد دردی و ضد التهابی داشته که در ادامه به تعدادی از آنها اشاره می‌شود.

در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۷۵ گویرا^۱ و همکارانش صورت دادند، هیدروکسی L - پرولین و مشتقات آن به- عنوان عوامل ضد درد و التهاب شناخته شدند (۲۳). حریمای^۲ در سال ۱۹۹۱ با مطالعات فارماکولوژیک در حیوانات نشان داد که تجویز آرژنین باعث آثار ضد درد و افزایش انکفالین در سطح مغز می‌شود؛ علاوه بر این در آزمایشی که روی ۱۲ بیمار مبتلا به انواع مختلف درد در مدت دست کم شش ماه صورت گرفت. با تزریق داخل وریدی آرژنین در میزان ۵ میلی لیتر (۰.۵ گرم)، درد توسط بیمار با استفاده از مقیاس ۱۰ سانتی متر نمره‌دهی مقایسه‌ای بینایی یا (VAS) visual analog scale، پیش و بعد از تزریق آرژنین مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تزریق آرژنین در درمان بی‌دردی خفیف در ۱۰ تا ۱۵ دقیقه پس از شروع تزریق و در بی‌دردی مشخص در ۳۰ تا ۴۰ دقیقه پس از آن، مؤثر بوده است (۲۴)؛ در تحقیقی دیگر که پلنلس^۳ و همکارانش در

سال ۲۰۰۰ انجام دادند، نشان داده شد که پپتیدهای غنی از آرژنین به عنوان مسدودکننده‌های کانال VR - 1 مربوط به انواع گیرنده‌های وانیلوئیدی با اثر ضد درد هستند از آنجاکه گیرنده‌های وانیلوئیدی، نقشی اساسی در انتقال درد ناشی از آسیب بافت‌های محیطی یا التهاب دارند، پپتیدهای غنی از آرژنین، مسدودکننده گیرنده‌های VR - 1 هستند. بر اساس تحقیق‌های به عمل آمده، پپتیدهای غنی از آرژنین سوزش چشم تولید شده موضعی توسط کپسایسین روی چشم حیوانات آزمایشگاهی را تخفیف می‌دهد (۲۵)؛ همچنین در پژوهشی دیگر که اونات^۴ و همکاران در سال ۱۹۹۵ انجام دادند، تزریق مرفین و اسید اسپاریک، در دوزهای ترکیبی، به بی‌دردی قابل- توجه منجر می‌شود؛ محققان به این نتیجه رسیدند که در سیستم ضد درد اپیوئیدی، اسپاریک اسید نیز دخیل است؛ همچنین با استفاده از آزمون Tail Flick (پس- کشیدن دم در اثر درد ایجاد شده با تابیدن اشعه) با تزریق دوز ۱۱۵-۲۳۰ میلی گرم/کیلوگرم داخل صفاقی اسید اسپاریک اثر ضد درد اسپاریک اسید در موش به- اثبات رسیده است (۲۶). در مطالعه‌ای که تاکاجی^۵ و همکارانش در سال ۱۹۹۷ انجام دادند با استفاده از آزمون Tail Flick اثر ضد درد اسید آمینه سرین در تسکین درد حاد و درد مزمن به اثبات رسید؛ تحقیق‌ها نشان دادند که سرین برای درمان دردهایی مانند سردرد، میگرن، درد بعد از عمل جراحی، دردهای روماتیسمی، درد سرطانی، مؤثر است (۲۷). در یک بررسی رفتاری توسط تمدن فرد در سال ۲۰۰۴ انجام گرفت، مشخص شد که تزریق داخل صفاقی هیستیدین موجب کاهش پاسخ درد به دنبال تزریق کف پای فرمالین در موش‌های سفید کوچک آزمایشگاهی شده است (۲۸)؛ در پژوهشی دیگر، آکدا^۶ در سال ۲۰۰۰ نشان داد هیستیدین دارای آثار بیولوژیک گسترده شامل اثر آنتی‌اکسیدانی، ضدامم، ضد- پروستاگلاندین، ضدایتروکین و ضد درد است؛ همچنین اسید آمینه هیستیدین ادم مغزی ناشی از جراحی سرما را در

4. Onat
5. Onat
6. Ikeda

1. Coirre
2. Harima
3. Planells

پروستاگلاندین‌ها، برادی کینین، سروتونین، ماده P و هیستامین می‌شود (۳۲)؛ بنابراین به احتمال، گیاه، آثار ضددردی خود را از طریق سنتز مهارکنندگان چنین ترکیب‌هایی از جمله پروستاگلاندین‌ها القامی کند. کاهش در تعداد انقباض‌های شکمی در یک حالت وابسته به دوز صورت گرفته‌است و گروه‌های آزمون کتیرا اثری بسیار قابل ملاحظه نسبت به گروه کنترل از خود نشان داده‌اند. براساس نتایج حاصل از این تحقیق، صمغ کتیرا باعث کاهش تعداد انقباض‌های شکمی و افزایش درصد مهار درد در دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل شد ($P < 0/0001$) و دوز $500 \mu\text{g/kg}$ کتیرا مؤثرترین دوز در کاهش تعداد انقباض‌های شکمی و افزایش درصد مهار درد است. در آزمون صفحه داغ زمان واکنش حیوانات به درد، طی دوره‌های زمانی ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰ با اختلاف ۱۵ دقیقه، در مجموع، در ۱۵ دقیقه پس از تزریق دوزهای مورد استفاده از صمغ کتیرا، دوزهای $125 \mu\text{g/kg}$ و $500 \mu\text{g/kg}$ درد را کاهش دادند و زمان پاسخ به درد دوز $125 \mu\text{g/kg}$ نسبت به $500 \mu\text{g/kg}$ بیشتر بوده‌است؛ اما دوز کتیرای $250 \mu\text{g/kg}$ با سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشته‌است ($P > 0/05$). با توجه به اینکه در آزمون صفحه داغ، ساختارهای مرکزی کنترل درد، مطرح (۳۳)، احتمال دخالت گیرنده‌های اوپیویدی در آثار ضددردی این صمغ وجود دارد، بنابراین به نظر می‌رسد که دست‌کم، قسمتی از آثار ضددردی کتیرا، از طریق ساختارهای مرکزی واسطه‌گری شوند. در خاتمه شاید بتوان این چنین مطرح کرد که ترکیب‌های موجود در کتیرا ممکن است از یک طرف با مهار آزادسازی اسید آراشیدونیک و در نتیجه، جلوگیری از سنتز پروستاگلاندین‌ها و از طرف دیگر با تأثیرگذاری بر سیستم اپیوئیدی، موجب کاهش درد می‌شوند؛ بنابراین نتایج این مطالعه نشان می‌دهند که کتیرا می‌تواند در کنترل درد حاد و مزمن نقش داشته باشد. از محدودیت‌های تحقیق حاضر که در سایر مطالعات مشابه هم دیده می‌شود، این است که رفتارهای ارزیابی شده در آزمون‌های پذیرفته شده writhing و Tail flick

موش‌های صحرایی کاهش داده‌است (۲۹). مطالعات متعدد نشان داده‌اند که برخی از اسیدهای آمینه فعالیت‌های ضدالتهابی دارند (۳۰). در پژوهشی به سال ۲۰۱۱ میلادی، امیرعباس فرشید و همکاران، اثر هیستیدین و دگزامتازون بر التهاب موضعی ناشی از هیستامین در موش صحرایی را بررسی کردند؛ در این تحقیق، آثار جداگانه و ترکیبی داخل صفاقی (IP) تزریق هیستیدین و دگزامتازون بر التهاب موضعی در موش صحرایی مورد آزمایش قرار گرفت و نتایج نشان داد که تزریق IP هیستیدین در دوزهای 200 mg/kg و 400 mg/kg و دگزامتازون در دوز 1 mg/kg به کاهش التهاب منجر شده و نفوذ نوتروفیل‌ها در بافت ملتهب کاهش یافته‌است؛ از طرفی، تزریق IP هیستیدین 200 mg/kg همراه با دگزامتازون 1 mg/kg در درمان ترکیبی، باعث پاسخ بهتری در کاهش التهاب در مقایسه با هیستیدین و دگزامتازون به تنهایی می‌شود. نتایج نشان می‌دهند که هیستیدین و دگزامتازون دارای فعالیت‌های ضدالتهابی‌اند و در دوز ترکیبی هیستیدین و دگزامتازون، هیستیدین اثر دگزامتازون را در کاهش التهاب تقویت می‌کند (۳۱). در مطالعه‌ای که^۱ در سال ۱۹۷۹ انجام داد، اثر مهاری اسیدهای آمینه مختلف در التهاب به وجود آمده در موش بررسی شد که سیتولوژی مایع صفاقی به عنوان ابزار تشخیصی بود. نتایج نشان دادند که اسید آمینه‌هایی مختلف از جمله هیدروکسی پرولین و والین به طور قابل توجهی در کاهش التهاب نقش دارند؛ براساس این نتایج، دی پتید (I والین - آلانین) دارای اثر قوی ضدالتهابی است (۳۲). نتایج تحقیق حاضر نشان دادند که صمغ کتیرا به صورت معنی دار پاسخ اسید استیک را به صورت وابسته به دوز مهار می‌کند.

انقباضات شکمی وابسته به حساسیت گیرنده‌های درد به ترکیباتی از جمله پروستاگلاندین‌ها می‌باشد آسیب بافتی سبب آزادسازی ترکیب‌هایی مانند

به علاوه، داده‌های به دست آمده نشان دادند که کتیرا اثر بهبوددهندگی در هر دو مدل درد حاد و مزمن ایجاد می‌کند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری آقای سید مجید باقری و سایر کارکنان آزمایشگاه فیزیولوژی و بخش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده پزشکی که در اجرای این پژوهش ما را یاری دادند، بی نهایت، سپاسگزاری می‌کنیم.

منابع

- Zargar A, Medical plants. Tehran: Tehran University; 2003.
- Avecina A, Ghanoo of Medicine, Vol. 2. Tehran: Soroush Publication Co; 1991.
- Pistelli LF, Secondary metabolites of genus Astragalus: Structure and biological activity. *Studies Nat Prod Chem*. 2002; 27: 443-545.
- Balaghi S, Mohammadifar MA, Zargaraan A. Physicochemical and rheological characterization of gum tragacanth exudates from six species of Iranian Astragalus. *Food Biophys* 2010; 5: 59-71.
- Gennaro AR, Remington: The science and practice of pharmacy. Vol. 20. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000.
- Anderson DMW, Bridgeman MME. The composition of the proteinaceous polysaccharides exuded by astragalus microcephalus, A. Gummifer and A. Kurdicus the sources of turkish gum tragacanth. *Phytochem* 1985; 24: 2301-2304.
- Lalhlenmawia PLH, Mazumder B. Characteristics and composition of Albizia procera Rox b Benth gum. *Indus Crops Prod* 2012; 40: 90-95.
- Anderson DMW, Grant DAD. Chemical compositions of the nitrogen containing gum tragacanth exudates from Asiatic Astragalus species, grown in North America. *Food Hydrocolloids* 1989; 3: 217-223.
- AY Leung, Foster S. Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, and cosmetics. No. Ed. 2. John Wiley & Sons, Inc., 1996.
- Khan IA, Abourashed EA. Leung's encyclopedia of common natural ingredients: used in food, drugs and cosmetics. Wiley, 2011.
- Vahdani M, Faridi P., Zarshenas MM, Javdpour S, Abolhassanzadeh Z, Moradi N, et al. Major compounds and antimicrobial activity of essential oils from five Iranian endemic medicinal plants." *Pharmacog J* 2011; 22 : 48-53.

ویژگی عمومی دارند و ممکن است با اثر غیرآنالژزیک مختلف مانند بلوکرهای آدرنژیک، آنتی‌هیستامین‌ها و شل‌کننده‌های عضلانی تداخل کنند؛ از این رو پیشنهاد می‌شود که این مطالعات روی مدل‌های دیگر درد و گونه‌های دیگر نیز بررسی شوند.

نتیجه‌گیری

در مجموع، این مطالعه نشان می‌دهد که صمغ کتیرا دارای آثاری ضد درد در دو مدل آزمایشگاهی ارزیابی درد است. این مطالعه آثار ضد دردی صمغ کتیرا را که در کتب طب سنتی به آن اشاره شده است، تأیید می‌کند؛

- Taherian, AA, Dehghanina M, Vafaei AA, Sadeghi H, Miladi Gorgi H. Effects of aqueous extract of fruit of *Foeniculum vulgare* on neurogenic and inflammatory pain in mice. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences* 2007; 12,: 29-36.
- Metzner JI, and Alec Rooke G. Analgesics and Sedatives. *Manual of Geriatric Anesthesia* 2013; 75-91.
- Burton TP, Anubhav M, Mattias S. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs and Anastomotic Dehiscence in Bowel Surgery: Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized, Controlled Trials. *Diseases of the Colon & Rectum* 2013; 56: 126-134.
- Shamsi Meymandi M, Keyhanfar F. Relative potency of pregabalin, gabapentin, and morphine in a mouse model of visceral pain. *Can J Anesth* 2012; 1: 1-6.
- Zendehdel Kheybari M, Ghahhari J, Vaezi GH, Shariatifar N. The study of hydroalcoholic extract of *Ziziphora tenuior* on visceral pain with writhing test in mice, *Ofogh- e - Danesh*, 2009; 15: 24-30.
- Onasanwo SA, Pal A, George B, Olaleye SB , Pharmacological and toxicity studies of the crude extracts and fractions of *Hedranthera barteri* leaf in rats and mice , *African Journal of Biomedical Research*, 2008; 11: 311 – 321.
- Eddy NB, Leimbach DG. Synthetic analgesics II. Dithienylbutenyl- and dithienylbutylamines", *J Pharmacol Exp Ther*, 1953; 107: 385-393.
- Taherian AA, Vafae AA, Rashidi Pour A, Imami Abarghouee M, Miladi Gorgi H, Jarrahi M, Sadeghi H. Effect of aqueous extract of seed of *Coriandrum sativum* on acute pain in mice Hot plante and Tail flick model in mice , , *Journal of Medicinal Plants* 2005; 13: 30-35.
- Haghighi N, Kessmati M, fathi Moghadam H. Study of interaction between opioid and α -2 adrenergic systems in analgesic effect of oxytocin in locus coeruleus nucleus, , *Physio Pharmacol* 2006; 10:259-266 .
- Bukhari IA, Khan RA, Gilani AH, Shah AJ, Hussain J, Ahmad VU. The Analgesic, Antiinflammatory and Calcium Antagonist Potential of *Tenacetum artemisiodes*, *Arch Pharm Res* 2007; 30: 303-308.

22. Vanderah Todd W, Largent-Milnes T, Lai J. Novel D-amino acid tetrapeptides produce potent antinociception by selectively acting at peripheral kappa-opioid receptors , Eur J Pharmacol 2008; 583: 62-72.
23. Coirre Paul, Bertrand C. Anti-inflammatory and analgesic L-hydroxyproline derivatives. U.S. Patent 3,891,765, issued 1975.
- 24 . Harima Akane, Shimizu H, Takagi H. Analgesic effect of L-arginine in patients with persistent pain. Eur Neuropsychopharmacol 1991; 1: 529-33.
- 25 . Planells-Casesa R, Aracilb A, Merinoc JM, Gallarb J, Perez-Paya d E, Belmonteb C, Gonzalez-Rosa JM, Ferrer-Montiel AV. Arginine-rich peptides are blockers of VR-1 channels with analgesic activity. FEBS 2000; 481: 131-136.
26. Onat F, Toker F, Aslan N, Oktay BK. Antinociceptive effect of D-Aspartic acid in mice , , Pharmacol Biochem Behav 1995; 51: 715-719 .
27. Takagi, Hiroshi, and Akihiro Harima. "Analgesic effect of 1-threo-3, 4-dihydroxyphenylserine (L-DOPS) in patients with chronic pain." Europ neuropsychopharmacol 1996; 6: 43-47.
28. Tamaddonfard E, Rahimi S. Central effect of histamine and peripheral effect of histidine on the formalin- induced pain response in mice. Clin Exp Pharmacol Physiol; 2004; 31: 518-22.
- 29 . Ikeda Y, Mochizuki Y, Matsumoto H, Nakamura Y, Dohi K, Jimbo H. L-histidine but not Dhistidine attenuates brain edema following cryogenic surgery in rats. Acta Neurochir Suppl , 2000; 76:195-7.
- 30 . Meyers BE, Moonka DK, Davis RH. The effect of selected amino acids on gelatin-induced inflammation in adult male mice. inflammation 1979;3: 225-233.
31. Farshid AA, Tamaddonfard E, Morvaridi A. Effects of Histidine and Dexamethasone on the Local Inflammation Induced by Histamine in Rats. Vet Res 2011; 2: 31-36.
32. Eidi A, Eidi M, Badiei L, Antinociceptive effects of ethanolic extract of parsley (*Petroselinum crispum* L.) leaves in mice. Med Sci J Islam Azad 2009; 19:181-186
33. Heidari MR, Vahedian M, Moamenzadeh S, Hayatbakhsh Abbasi MM. The Analgesic Effect and Possible Mechanism of *Colchicum Szovitsii* Methanolic Extract in Mouse. JRUMS 2005; 4: 25-33.

Archive of SID

Daneshvar

Medicine

*Scientific-Research
Journal of Shahed
University
Twentieth Year,
No.102
December 2012,
January 2013*

Received: 2012/10/22

Last revised: 2013/1/9

Accepted: 2013/1/28

A comparison between the analgesic effect of tragacanth gum, diclofenac and morphine in mice using writhing and hot-plate analgesic tests

Leila Keihani¹, Mohammad Ebrahim Rezvani^{1*}, Mohammad Hossain Dashti-Rahmatabadi³

1. Science and Research Branch, Islamic Azad University, Fars, Iran.
2. Associate Professor of Physiology - Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.
3. Assistant Professor of Physiology, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

E-mail: erezvani@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: Some of medicinal plants have been used for pain relieving in larnian ancient medicine. *Astragalus gummifer* (AG) is one of them and its gum (tragacanth gum) were used for several health purposes. The present study was conducted to evaluate the analgesic effects of this gum in mice.

Materials and Methods: In this study, the analgesic effect of tragacanth gum was determined using hot-plate and writhing tests. Mice were injected with tragacanth gum at doses of 125, 250 or 500 µg/kg i.p. as treatment groups. Morphine at doses of 2, 4 or 8 µg/kg i.p., and diclofenac at doses of 10, 20 or 30 µg/kg i.p. were used as control groups.

Results: In writhing test, gum tragacanth at different doses (125, 250, and 500 µg/kg) significantly reduced the number of writhings in mice as compared to control group ($p < 0.05$). In hot-plate test, maximum possible effect of tragacanth gum significantly increased only after 15 minutes but not in other time periods. In two models of pain assesment, both morphine sulfate and diclofenac sodium had also pain relieving potential.

Coclusion: The present study indicated that tragacanth gum elicits prominent analgesic effects in an experimental model of acute and chronic pain. Additionally, data obtained in this study indicated the presence of some constituents with pain relieving properties that confirms the traditional use of the gum for pain relieving purposes.

Key words: Tragacanth gum, Diclofenac, Morphine, Analgesia, Writhing test, Hot plate test