

اثر عصاره بابونه بر کاهش درد در موش سفید آزمایشگاهی

دکتر علیرضا وحیدی^۱ - دکتر محمدحسین دشتی^۲ - سید حمید جمال الدینی^۳

چکیده

داروهای گیاهی و کاربرد آنها از زمانهای قدیم اطلاعات وسیعی را در دسترس قرار می دهد. استفاده از گیاهان در معالجه تعداد بسیاری از بیماریها بطور سنتی و در سطح وسیعی متداول بوده است. بابونه از جمله گیاهانی است که در طب سنتی ایران به عنوان تسکین دهنده درد و یک عامل ضد اسپاسم مورد استفاده قرار می گیرد. برای بررسی اثرات ضد دردی این گیاه اثر عصاره آن را بر روی شدت درد حاصل از تزریق زیر جلدی فرمالین در کف پای موش سفید آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادیم. این پژوهش به منظور بررسی اثرات ضد درد به روش تجربی آزمایشگاهی در مهرماه ۱۳۷۹ در دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد با استفاده از تست فرمالین انجام گردید. (تست فرمالین یکی از تستهای استاندارد برای ارزیابی اثرات ضد درد مواد می باشد). درد حاصل از پنج دقیقه اول درد حاد و ۳۰-۲۰ دقیقه پس از تزریق درد مزمن نامیده می شود. عصاره بابونه با حجمهای ۱ ml/kg و ۲ ml/kg (۰/۳mg/kg و ۰/۷mg/kg اسانس) عصاره به حیوان داخل صفاقی تزریق و نتایج آن ثبت گردید. در گروه کنترل نیز ۱۵ دقیقه قبل از تزریق فرمالین، نرمال سالین تزریق شد. در این آزمایش ۳ گروه و در هر گروه ۵ موش مورد استفاده قرار گرفت که به گروه اول ۱ ml/kg نرمال سالین به عنوان کنترل تزریق شد و به گروه دوم و سوم عصاره بابونه با دوزهای ۱ ml/kg و ۲ ml/kg تزریق گردید. نتایج حاصله از این پژوهش نشان می دهد که غلظت ۲ ml/kg عصاره بابونه اثر ضد دردی بیشتر از غلظت ۱ ml/kg دارد. عصاره بابونه به یک روش وابسته به غلظت، میانگین شدت درد در طول یک ساعت پس از تزریق زیر جلدی فرمالین را به طور قابل ملاحظه ای کاهش می دهد ($P < 0.001$) که این اثر در فاصله زمانی (۶۰-۲۵ دقیقه پس از تزریق فرمالین) بارزتر می باشد. نتایج حاصله از این پژوهش مؤید این است که عصاره بابونه درد مزمن را بیش از حد تحت تاثیر قرار می دهند.

واژه های کلیدی: بابونه - درد - تست فرمالین

مقدمه

امروزه گیاه درمانی به صورت مختلف اعم از استفاده از فرآورده های گیاهی با عصاره های تام آنها در تمام دنیا رایج است و توجه خاص به گیاه درمانی رو به افزایش است در این راستا و با توجه به گسترش تقاضا برای گیاه درمانی بررسی و

تحقیق در این زمینه ضروری است و نیاز به وسعت و گسترش این زمینه را می طلبد و تحقیقات فراوانی در مورد بررسی اثر ضد دردی عصاره های تام گیاهان انجام شده است. درد نشانه عمومی اکثر بیماریها بوده و غالباً مشخص کننده عاملی است که بیمار را متوسل به توجهات پزشکی می نماید و مدتهاست که مسئله درد فکر پزشکان و کارشناسان را به خود مشغول کرده است و چون درد قبل از هر علامتی باعث رجوع بیمار به پزشک می شود. بدین جهت بهبود آن از اهمیت به سزایی برخوردار است^(۱).

۱- عضو هیات علمی گروه فارماکولوژی

۲- استادیار گروه فیزیولوژی

۳- دانشجوی پزشکی

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد با استفاده از تست فرمالین انجام گرفت.

به منظور انجام آزمایشات از حیوانات آزمایشگاهی با وزن ۳۰۰-۲۵۰ گرم وات به نام علمی Rattas. Norrgicus از نژاد Wistar استفاده گردید زیرا یک مدل تجربی بسیار خوب برای مطالعات بیوشیمیایی محسوب می گردد. حیوانات از لانه حیوانات رازی خریداری و در لانه حیوانات دانشکده پزشکی نگهداری و تکثیر شدند. دمای اطاق نگهداری از حیوانات در حدود 22 ± 1 درجه سانتیگراد و در راتهای تحت رژیم غذایی آزمایشگاهی Qd libitum و دوره های روشنایی ۱۲ ساعته قرار داده شده اند. برای تهیه عصاره بابونه از قطره های موجود (Chamamill) با مشخصات زیر:

۱۰۰cc قطره حاوی ۱۰۰ میلی گرم اسانس، ۱۰ میلی گرم کامازولین، ۲ میلی گرم اپی چنین که از محلول استوک غلظتهای مورد نظر برای تزریق تهیه شده مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا با استفاده از محلول فرمالین ۳۷/۵ درصد (فرمالین استاندارد) محلولهای رقیق شده فرمالین ۲/۵ درصد تهیه و با استفاده از روش پیشنهادی Dubission & Dennis بعد از اینکه حیوان مورد آزمایش را وزن کرده و حداقل به مدت ۱۵ دقیقه در ظرف مشاهده قرار می دادیم تا با آن محیط آشنا شود. سپس حیوان را در محفظه مقید کننده (Restrainer) گذاشته و مقدار ۵۰ میکرولیتر محلول فرمالین رقیق شده (۲/۵ درصد) با استفاده از سرنگ انسولین در زیر پوست کف پای حیوان تزریق می شد. پس از تزریق فرمالین حیوان بلافاصله به ظرف مشاهده برگردانده می شد و به مدت یک ساعت رفتار درد حیوان را زیر نظر قرار می دادیم و برای این رفتار حیوان در مقاطع زمانی ۱۵ ثانیه ای بر اساس نظر (Dubuisson & Dennis) امتیاز کمی در نظر گرفته و ثبت می گردید. بطوری که بر اساس مشاهده در هر دقیقه ۴ امتیاز برای درجه یا شدت درد (pain score or pain rate) ثبت می گردید. سپس با استفاده از فرمول ارائه شده توسط Dubuisson & Dennis میانگین درجه درد برای هر حیوان مورد آزمایش در مقاطع زمانی ۵ دقیقه ای به شرح زیر محاسبه

بابونه از جمله گیاهانی است که در حال حاضر در طب سنتی ایران به عنوان تسکین دهنده درد و تب و یک عامل ضد اسپاسم مورد استفاده قرار می گیرد^(۲).

گرد بابونه را از گل‌های خشک شده گیاه ماتریکار یا کامومیال به دست می آورند. گردی است سبز مایل به زرد با بوی معطر و مطبوع و مزه تلخ، بوی آن مربوط به اسانس فراری به نام کامازولن (Chamazulen) می باشد و مزه تلخ آن مربوط به گلیکوزیدهای است، به نام پس جنین (Pigenin) و تری هیدروکسی فلاون (Trihydroxyflavon). بابونه همچنین دارای فلاونوئیدها از جمله سیرانوزید (Cyranosid)، پاتولترین (Patulitrin) می باشد^(۳و۴). بدون شک از ترکیبات فوق فلاونوئیدها مسئول اثر اسپاسمولیتیکی هستند و اسانس ها به ویژه بیزابولول و کامازولن مسئول اثرات ضد التهابی می باشد (۵و۶).

خواص درمانی و موارد استعمال: برای بابونه خواص زیادی از جمله: مدر، معرق، مقوی معده، بادشکن، اشتها آور، هضم کننده غذا، صفرابر، قاعده آور، التیام دهنده، ضد عفونی کننده، مسکن درد، ضد تشنج، ضد التهاب، مقوی مغز، درمان جوش و ضد خارش ذکر کرده اند^(۳و۴و۷). اثر ضد التهابی گیاه را بیشتر به مواد موجود در اسانس نسبت می دهند مثل کامازولن (Chamazulene) و آلفابیزابولول α -Bisabolol همچنین برای ان - ای دی سیکلواتر (En-In-Dicycloether) اثر ضد التهاب و ضد اسپاسم گزارش شده است^(۵و۶و۸). در پزشکی سنتی بابونه در سردرد، زخم، تسکین درد قولنج، ضد سنگهای ادراری، ضد تب و نقرس بکار رفته^(۱۱و۱۰و۹و۷). برای بررسی اثرات ضد دردی این گیاه اثر عصاره آن بر روی شدت درد حاصل از تزریق زیر جلدی فرمالین در کف پای موش سفید آزمایشگاهی مورد بررسی قرار داده ایم.

روش بررسی

این پژوهش به منظور بررسی اثرات ضد دردی بابونه به روش تجربی - آزمایشگاهی در پائیز ۱۳۷۹ در دانشکده

۲ml/kg اثر ضد دردی بیشتری نسبت به ۱ml/kg داشته است جدول (۱) و نمودار (۲) اثر ضد دردی عصاره مختلف بابونه در زمانهای ۵-۰ و ۶۰-۲۵ دقیقه پس از تزریق عصاره نشان داده شده است که نشاندهنده کاهش درد در ۲ مرحله می باشد جدول (۲). مقایسه کاهش درد در مرحله حاد و مزمن نشان داده است که عصاره بابونه درد مزمن را بیشتر از درد حاد کاهش می دهد و وابسته به غلظت می باشد نمودار (۱).

زمان به دقیقه

نمودار ۱: اثر قطره بابونه بر شدت درد ناشی از آزمایش فرمالین

می شد $M.P.S = \frac{S(\Sigma_0 + \Sigma_1 + \Sigma_2 + \Sigma_3)}{S}$ که در آن M.P.S میانگین درجه درد در فاصله زمانی معین (که در آزمایشات ما مقطع زمانی ۵ دقیقه ای در نظر گرفته شده) S مدت زمانی که طی آن یک امتیاز برای درد در نظر گرفته می شود درد حاصل از ۵ دقیقه اول پس از تزریق فرمالین درد حاد و در فاصله زمانی ۶۰-۲۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین درد مزمن نامیده می شود^(۱۲) و برای رسم منحنی میزان درد نسبت به زمان در هر گروه آزمایش میانگین میانگینهای ۱۲ گانه درجه درد محاسبه می گردد^(۱۳).

روش نمونه گیری در این مطالعه به صورت تصادفی می باشد و تعداد نمونه مورد نیاز با سطح اطمینان (Z-B=1.64) 95% در هر گروه می باشد.

۱۵ رت به صورت تصادفی به سه گروه ۵ تایی تقسیم شدند که یک گروه به عنوان شاهد و ۱۵ دقیقه قبل از آزمایش فرمالین نرمال سالین داخل صفاقی به آنها تزریق می شد و دو گروه دیگر مورد به ترتیب غلظتهای ۱ ml/kg و ۲ml/kg عصاره تزریق گردید سپس تست فرمالین بر روی هر سه گروه انجام گردید و نتایج این پژوهش به صورت میانگین و انحراف معیار Mean + Sem در ۵ موش ثبت گردید جهت تعیین وجود اختلاف معنی دار میان گروههای کنترل و مورد که غلظت متفاوت عصاره حامل بابونه دریافت می کردند از آنالیز واریانس ANOVA و به دنبال آن از T test استفاده شد و اختلاف $P < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

در این بررسی برای تمام گروههای مورد و کنترل از دستجات ۵ تایی حیوانات مشابه استفاده شده است اثر ضد دردی عصاره بابونه در فواصل زمانی ۵ دقیقه به مدت یکساعت پس از تزریق عصاره در مقایسه با گروه کنترل اندازه گیری شد که تزریق عصاره با غلظت ۱ ml/kg تا دقیقه ۶۰ پس از تزریق اثر ضد دردی نسبت به گروه کنترل داشته است نمودار (۱). اثر ضد درد غلظتهای ۱ ml/kg و ۲ml/kg با هم مقایسه شد غلظت

زمان به دقیقه

نمودار ۲: اثر قطره بابونه بر شدت درد در زمانهای مختلف

آزمایش فرمالین

جدول ۱: مقایسه اثرات ضد درد غلظتهای مختلف بابونه با شاهد و یکدیگر بر حسب زمان

۲ml/kg		۱ml/kg		گروه شاهد		گروه
انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	زمان
۰/۲۶	۱/۷۲	۰/۳۵	۱/۹۹	۰/۳۶	۲/۳	۰-۵
۰/۱۲	۱/۷۹	۰/۲	۱/۸۴	۰/۰۹	۲/۱۴	۲۵-۶۰
۰/۱۵	۱/۶۲	۰/۲۲	۱/۷۳	۰/۱۱	۲/۰۴	۰-۶۰

N=5

جدول ۲: مقایسه اثرات ضد درد غلظتهای مختلف بابونه با شاهد و یکدیگر بر حسب زمان

۰-۶۰			۲۵-۶۰			۰-۵			زمان دقیقه
مورد ۱	شاهد	گروه های مورد آزمایش							
مورد ۲	مورد ۲	مورد ۱	مورد ۳	مورد ۲	مورد ۱	مورد ۳	مورد ۲	مورد ۱	
۰/۴۱	۰/۰۰۱	۰/۰۲۵	۰/۶۴	۰/۰۰۰۸	۰/۱۸	۰/۲	۰/۰۱۷	۰/۱۹	Pvalue

N=5

بحث

فرمالین دارای دو مرحله زودرس و دیررس می باشد به نظر می رسد که مرحله زودرس به طور عمده مربوط به فعال سازی فیبرهای نوع C و به دلیل محرکهای محیطی باشد در حالی که مرحله دیررس مربوط به واکنشهای التهابی دریافتهای محیطی و تغییرات عملکرد در شاخه خلفی نخاعی است مشخص گردید که عصاره بابونه در موش سفید آزمایشگاهی قادر به القای بی دردی می باشد به علاوه عصاره مذکور در غلظتهای پائین قادر است درد ایجاد شده توسط فرمالین را مهار نماید که احتمالاً به واسطه مکانیسمهای موجود در سیستم اعصاب مرکزی است (۱۹،۲۱،۲۰)

یافته های حاضر نشان می دهد که عصاره بابونه قادر به القای وابسته به غلظت بی دردی در مرحله زودرس آزمایش فرمالین می باشد. همچنین غلظت بالای این دارو در مرحله دیررس فعالیت بی دردی از خود نشان می دهد و می توان چنین نتیجه گیری کرد که بی دردی القاء شده توسط این دارو از طریق مکانیسمهای کولینرژیک صورت می پذیرد (۲۱ و ۲۲). این

با توجه به بروز عوارض ناخواسته و نامطلوب که در اثر مصرف داروهای ضد درد شیمیائی بروز می کند یافتن ترکیبات جدید ضد درد بخصوص داروها با منشا گیاهی امروزی ضروری به نظر می رسد (۱۶،۱۵،۱۴) و با توجه به اینکه گیاه بابونه با غلظتهای مختلف که از طریق داخل صفاقی به موشها تزریق گردید و سپس اثر ضد دردی با تست فرمالین مورد بررسی قرار گرفت و نتایج تحقیق نشان داد تزریق عصاره گیاه مزبور واجد اثر ضد دردی است که با افزایش غلظت اثر، مدت زمان پاسخ دهی ضد دردی عصاره افزایش می یابد. بدین معنی که اثر ضد دردی با غلظت ۲ml/kg بیشتر از غلظت ۱ ml/kg عصاره مذکور بروز کرده است.

آزمایش فرمالین نخستین بار توسط Dennis, Dubuisson در سال ۱۹۷۷ ارائه گردید (۱۷). تاکنون موارد بسیاری از مطالعات انجام گرفته روی اثر و عملکرد داروهای مختلف نظیر اپیوئیدها (۱۸) بکار رفته است و پاسخ آزمایش

فاز آزمایش فرمالین می تواند اثرات ضد دردی مرکزی را برای عصاره پیشنهاد کرد^(۱۵). درد ایجاد شده در آزمایش فرمالین در مرحله دوم تا حد زیادی درد ناشی از فرآیند التهاب است^(۱۷ و ۲۱) و به نظر می رسد که بابونه سنتز پروستوگلاندینها را مهار می کند با توجه به نتایج حاصله می توان اثرات ضد التهابی برای عصاره محتمل دانست بطور خلاصه می توان گفت که عصاره بابونه دارای اثر ضد دردی مناسب است لذا پیشنهاد می گردد استفاده از آن به عنوان یک داروی تسکین دهنده درد نیاز به اطلاعات کلینیکی بیشتر دارد. مطالعات گسترده تری جهت دریافت مکانیسم اثر ضد دردی گیاه فوق صورت گیرد و مواد مؤثره ضد درد گیاه شناسایی شود و مطالعات دقیق در زمینه فارماکولوژی و سم شناسی برای مواد مؤثره گیاه مذکور نیز صورت گیرد.

احتمال وجود خواهد داشت که عمل داروی مذکور به واسطه گیرنده مربوط در سیستم اعصاب مرکزی اعمال می گردد. یافته های حاصل از مطالعه حاضر در توافق با مشاهدات سایر پژوهشگران مبنی بر مرتبط بودن بی دردی القاء شده توسط بابونه با تحریک گیرنده نیکوتینی و استیل کولین در سیستم اعصاب مرکزی باشد^(۲۴ و ۲۳ و ۲۱). مواد ضد دردی مانند آسپرین، ضد دردهای غیر استروئیدی بر روی درد فاز یک (حاد) که نتیجه تحریک مستقیم گیرنده های درد می باشد بی تاثیرند و یا کم تاثیرند و عمدتاً درد مرحله دوم (مزمن) با درد ناشی از التهاب را مهار می کنند در حالیکه داروهایی که از طریق اثر بر سیستم اعصاب مرکزی (مثل اپیوئیدها) اثر ضد دردی دارند باعث مهار درد در مرحله دوم می شوند^(۲۵). در این پژوهش نتایج حاصل مبنی بر اثرات درد عصاره مورد استفاده در هر دو

References:

- ۱- کارول بوش: بررسی - شناخت - درمان درد - ترجمه شروفی - س، ساجدی ف، بوستانی - ن، انتشارات، ۱۳۷۴، صص: ۱۵-۱.
- ۲- زرگری، ع.: گیاهان دارویی. چاپ سوم، جلد دوم، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ۱۳۶۱، صص: ۱۸۹، ۱۸۸، ۱۸۶، ۱۸۵.
- ۳- صمصام شریعت، ه: دستور کار آزمایشگاه گیاهان دارویی، انتشارات دانشگاه اصفهان، ۱۳۶۴، صص: ۱۸، ۱۹، ۲۰، ۲۱، ۴۰.
- 4- Trease, G.E; Evans, W.C.: **Pharmacognosy**. 12th. Edition, Bailliere Tindall, London, 1983, 225, 367, 483.
- 5- Varro, E.T; Lynn, R.B; James, E.R.: **Pharmacognosy**, 9th. Edition, Lea & Febigen, 1988, Philadelphia, 464-466.
- 6- Merk Index. 9th. Edition, Merk sharp and Dohme Limited, 1861, USA, 3277, 5587.
- 7- Martindale the Extra pharmacopoeis. 28th. Edition, the pharmacocentical press, 1982, London, 234-237, 257-260, 335-450, 1353, 673, 678, 1710.
- ۸- مومن حسینی، ن. م. تحفه المومنین، انتشارات مصطفوی، تهران ۱۳۴۵، ۹۱، ۱۰۵، ۲۶۳.
- ۹- ابن سینا، ح.: قانون در طب، ترجمه: شرفکندی، ع. چاپ اول، جلد دوم، انتشارات سروش، تهران، ۱۳۶۲، ۸۴ و ۱۵۸.
- ۱۰- بیرونی، ا: صیدنه، ترجمه: ستوده، م: افشار، ا. جلد دوم، انتشارات چاپ افست سهامی عام ۱۳۵۸، ۷۹۰ و ۸۲۴.
- ۱۱- رازی، م: الحاوی فی الطب، جلد بیستم، مطبعه دائره المعارف العثمانیه، حیدرآباد دکن، الهند، ۱۳۴۷، ۱۴۳، ۱۴۵، ۳۹۹.
- 12- Coderre, I.J., Vaccrine A.L., and melzacr R., **Central Tonic pain response to subcutaneous formalin injection** BrainRes, 1990, 535, 155-158.
- 13- Heidar, M.R; Khalili, F; Ghazi Khansari, M; Hashemi, B; Zarrindast, M.R; **Effect of picrotoxin on antinociception in the formalin test Pharmacology and toxicology** group, Elsevier 1996, 78, 5, 313-6.
- 14- Ivey, KJ; **Gastrointestinal intolerance and bleeding with non - narcotic analgesics**, Drugs, 1986, 32 (Suppl4): 71.
- 15- Murray, MD; Brater DC; **Renal toxicity of the nonsteroidal anti - inflammatory drugs**, Annu Rev pharmacol Toxicol 1993, 32: 435.

- 16- Coderre TJ, Vacarino AL and Melzac, r, **Central nervous system plasticity in the tonic pain response to subcutaneous formalin injection.** Brain Res, 1990, 535, 155, 158.
- 17- Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, Inoki R, **Modified formalin test, characteristic biphasic pain response,** pain 1989, 38; 347-52.
- 18- Morgan, M.J. and franklin, K.B.J., **Dopamine receptor subtypes ad formalin test** Analgesia, Pharmacol. Biochem. Behav., 1991, 40: 317-322.
- 19- Aceto, M.D. martin, B.R., Tripathi, H.L., May, E.L. and jacobson, A.E., **Antinociceptive effects of the optically pure stereoisomers of nicotine** *Pharmacologist* 1980, 22; 302.
- 20- Phan, D.V., Doda, M., Bile, A. and Gyorgy, L., **Antinociceptive activity of nicotine,** Acta physiol. Acad. Sci. Hung 1973, 1: 85-93.
- 21- Sahley, T.L. and Bernston, G.G., **Antinociceptive effects of central and systemic administration of nicotine in the rat.,** Psychopharmacology, 1979, 65: 279-283.
- 22- Molinero, M.T. and Del Rio J., Substance P **Nicotinic acetylcholine receptors and antinociception in the rat,** Neuropharmacology 1987, 26: 1715-1720.
- 23- Tripathi, H.L., Martin, B.R. and Aceto, M.D., **Nicotine induced antinociception in rats and mice: Correlation with nicotine brain levels.** J. pharmacol. Exp. Ther., 1982, 221; 91-96.
- 24- Nordber, A., Romanelli, L., Sundwall, A., Bianchi, C. and Beani, L., **Effect of acute and subchronic nicotine treatment of cortical acetylcholine release and on nicotinic receptor in rats and guinea – pigs,** Br. J. Pharmacol 1989, 98; 71-78.
- 25- Hunskaar, S an Hole K, **The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and noninflammatory,** Pain 1987, 30: 103-114.

