

## بررسی اثرات ضددردی عصاره آبی بذر گیاه مرزه *Satureja hortensis linn* در موش صحرائی نر

جواد وردی<sup>۱</sup>، معصومه ثابت کسایی<sup>۱</sup>، محمد کمالی نژاد<sup>۲</sup>، شیوا شریف<sup>۳</sup>

۱- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، گروه فارماکولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب

۲- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده داروسازی، گروه فارماکولوژی

۳- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب

### چکیده

در طب سنتی ایران گزارشات متعددی در مورد اثرات ضددردی گیاه مرزه وجود دارد. برای ارزیابی اثرات ضددردی احتمالی این گیاه، از مدل‌های درد مزمن (آزمون فرمالین) و حاد (آزمون Tail - Flick) در موش صحرائی نر استفاده شد. دوزهای (mg/kg) (p.o.) (۵۰۰، ۳۰۰) و (mg/kg) (i.p.) (۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰) از عصاره آبی مرزه درد را در آزمون Tail-Flick کاهش نداد. در حالی که در دوزهای مذکور، درد را بطور معنی‌داری در هر دو فاز آزمون فرمالین کاهش داد ( $P < 0.001$ ).

سدیم سالیسیلات تنها در فاز دوم آزمون فرمالین، درد را کاهش داد. ما نتیجه گرفتیم که:

۱- اثرات ضددردی عصاره از راه داخل صفاقی مؤثرتر از راه خوراکی بود. ۲- اثرات ضددردی عصاره در دوز ۲۵۰ mg/kg داخل صفاقی قویتر از دوزهای ۶۲/۵ و ۱۲۵ mg/kg داخل صفاقی، ۳۰۰ و ۵۰۰ mg/kg خوراکی و دوز ۳۰۰ mg/kg سدیم سالیسیلات بود. ۳- عصاره آبی بذر گیاه مرزه، اثرات ضددردی را از طریق مکانیسم مرکزی اعمال می‌نماید، زیرا، عصاره روی هر دو فاز آزمون فرمالین تأثیر داشت. ۴- ترکیبات فلاونوئیدی و ترپنوئیدی، ممکن است در اثرات ضددردی این عصاره نقش داشته باشند.

واژه‌های کلیدی: مرزه، ضددردی، آزمون فرمالین، آزمون Tail-Flick.

### مقدمه

استفاده قرار می‌گیرند که با وجود کاربرد فراوان، آثار نامطلوب آنها نیز قابل توجه است [۱]. به عنوان مثال شبه آسپیرین‌ها، آسپیرینی را به دستگاه گوارش، کلیه‌ها و سیستم عصبی مرکزی وارد می‌سازند و علاوه بر آن در برخی بیماران نیز مؤثر نیستند. در مورد داروهای ضددردی اپیوئیدی نیز مشکلاتی مانند مقاومت به دارو، وابستگی،

جستجو برای یافتن ترکیبات جدید ضددردی از دهه ۱۹۶۰ در دنیا شروع شده است، چرا که داروهای موجود هنوز طیف وسیعی از اثرات ناخواسته را در بردارند که گاهی به نسل‌های بعدی هم منتقل می‌شود. هم‌اکنون بطور عمده دو دسته اصلی از مواد ضددردی یعنی اپیوئیدها و داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی (شبه آسپیرین‌ها) مورد

سرخوشی و سوءاستفاده وجود دارد [۲].

۱۲ ساعت تاریکی نگهداری می‌شدند.

عقیده بر این است که اغلب ترکیبات طبیعی و به خصوص گیاهان طبی می‌توانند منبع یافتن ترکیبات جدید باشند، به دلیل اینکه برخی ترکیبات مشهور دارویی فعلی مثل آسپیرین، آتروپین، مرفین و کوکائین از گیاهانی که به عنوان ضد درد استفاده می‌شده‌اند، به دست آمده است [۳]. در همین راستا پژوهش حاضر به منظور اثبات خاصیت ضد دردی گیاه مرزه *Satureja hortensis* به عنوان گیاهی که در گذشته برای درمان ناراحتی‌های متعددی از جمله درد قلب، درد دندان و گلو، تسکین دردهای روماتیسمی و عصبی به کار می‌رفته انجام گردیده است [۴].

## مواد و روش‌ها

۱- تهیه عصاره گیاهی. بذر گیاه مرزه از مناطق اطراف تهران جمع‌آوری گردید و یک کیلوگرم از آن آسیاب شد. پودر حاصل از آسیاب، به مدت ۲۰ دقیقه در آب جوشید و سپس صاف گردید و روی بن‌ماری در حال جوش تغلیظ شد، تا عصاره‌ای با ویسکوزیته بالا (مانند عسل) به دست آید. عصاره نهایی در یخچال ۱۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. قبل از استفاده از عصاره رطوبت آن با استفاده از روش زیر تعیین گردید: ابتدا مقدار ۲ گرم از عصاره با استفاده از ترازوی دقیق با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم روی کاغذ آلومینیوم وزن و سپس به مدت ۷۲ ساعت در آن ۶۰-۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، بعد از آن مجدداً با همان دقت وزن و در هنگام استفاده از عصاره نهایی باتوجه به دوز مورد نظر تا حد لازم رقیق گردید.

۲- حیوانات. در تمام آزمایشات از موش صحرایی نر با نژاد NMRI، با محدوده وزنی ۲۶۰-۲۲۰ گرم استفاده شد. این حیوانات از انستیتو پاستور خریداری شدند و در قفس‌های شفاف از جنس Plexiglass در گروه‌های ۴ تایی در دمای اتاق با تهویه مناسب و دوره نوردهی ۱۲ ساعت روشنایی،

## آزمونهای سنجش درد:

برای بررسی آثار ضد درد عصاره از دوزهای ۳۰۰ mg/kg و ۵۰۰ mg/kg بصورت خوراکی (p.o) و ۱۲۵ و ۲۵۰ mg/kg بصورت داخل صفاقی (i.p) در هر دو تست Tail-Flick و فرمالین استفاده و مورد ارزیابی قرار گرفت. از دوز ۳۰۰ mg/kg سدیم سالیسیلات (Merck) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

الف) تست Tail-Flick- این آزمایش با استفاده از دستگاه Tail-Flick ساخت کارخانه USE آلمان انجام گرفت، آزمون براساس مدل ارائه شده توسط D'Amour و Smith [۵] انجام شد و شدت نور مورد استفاده برابر ۷ بود و از زمان ۱۰ ثانیه به عنوان زمان قطع نوردهی (cutoff time) استفاده شد. یعنی چنانچه حیوان تا مدت ۱۰ ثانیه پس از شروع تابش نور سوزان، دم خود را نمی‌کشید به منظور جلوگیری از آسیب بافتی محرک قطع می‌شد. حیوان به صورت افقی داخل محفظه مخصوص نگهداری حیوان قرار گرفت و دم آن آزاد بود. مدت زمان تأخیر در کشیدن دم سه مرتبه و با فواصل دو دقیقه قبل از تزریق دارو یا عصاره اندازه‌گیری شد و میانگین آن به عنوان زمان تأخیر قبل از دارو محسوب و (Pre-drug latency) ثبت شد. حیواناتی که حداقل در دو آزمون از سه مورد فوق زمان تأخیر بیش از ۶ ثانیه داشتند از جریان آزمون حذف شدند، ۲۰ دقیقه پس از تزریق دارو یک سری ۳ تایی دیگر از آزمون انجام شد و میانگین آن با عنوان زمان تأخیر پس از دارو ثبت گردید (Post-drug latency).

ب) تست فرمالین- از مدل ابداع شده توسط Dubuisson و Dennis برای ارزیابی درد مزمن استفاده شد [۷و۶]. بدین ترتیب که حیوانات یک ساعت قبل از تست به منظور عادت کردن با شرایط آزمایش به داخل جعبه مخصوص تست

اول تست فرمالین (درد حاد) و میانگین دقایق ۶۰-۱۵ تست به عنوان فاز دوم تست فرمالین (درد مزمن) محسوب می‌شد.

### ارزیابی آماری

نتایج به دست آمده از آزمون Tail-Flick (زمان تأخیر قبل از دارو، زمان تأخیر پس از دارو) توسط تست t-student زوجی مقایسه شد. نتایج آزمون فرمالین در هر دو فاز اول و دوم بطور جداگانه توسط ANOVA یکطرفه و به دنبال آن تست Tukey-Kramer مقایسه شدند.  $P < 0.05$  به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد، و داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار میانگین (SEM) بیان گردیده است.

### نتایج

نتایج حاصل از آزمایش Tail-Flick نشان داد که دوز ۳۰۰ mg/kg سدیم سالیسیلات، دوزهای ۳۰۰ و mg/kg ۵۰۰ خوراکی و ۶۲/۵، ۱۲۵ و mg/kg ۲۵۰ داخل صفاقی عصاره اثری بر زمان تأخیر ندارند و هیچ گونه اثر بی‌دردی در این آزمایش از خود بروز نمی‌دهند (داده‌ها نشان داده نشده است).

فرمالین منتقل شدند، این جعبه مخصوص از جنس Plexiglass و در ابعاد (۳۰×۳۰×۳۰) ساخته شده بود و به منظور مشاهده بهتر حرکات حیوان آینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه زیر آن و رویروی مشاهده کننده قرار می‌گرفت. ۳۰ دقیقه پس از تجویز خوراکی و داخل صفاقی داروها، ۵۰ میکرولیتر از فرمالدئید (Merck) ۲/۵ درصد به کف پای راست حیوان به صورت زیرجلدی (S.C.) تزریق شد و حیوان مجدداً به جعبه مخصوص تست برگردانده شد و رفتار حیوان مورد بررسی قرار گرفت و به صورت زیر برای مدت ۶۰ دقیقه نمره گذاری شد:

هنگامی که حیوان وزن خود را بطور مساوی با هر دو پا تحمل می‌کرد نمره صفر، اگر حیوان از پای تزریق شده خود مراقبت می‌کرد ولی پا با کف جعبه در تماس بود نمره ۱، اگر پای خود را جمع می‌کرد و آن را بالا نگه می‌داشت نمره ۲ و اگر پا را می‌لیسید، می‌جوید یا به شدت تکان می‌داد به آن نمره ۳ تعلق می‌گرفت. هر ۱۵ ثانیه نمره‌ای متناسب با رفتاری که حیوان بیشتر انجام می‌داد به حیوان داده می‌شد. میانگین ۱۰ دقیقه ابتدای هر تست به عنوان فاز

جدول ۱: عملکرد عصاره آبی بذر مرزه *Satureja horthensis linn*، بصورت خوراکی (p.o.) و داخل صفاقی (i.p.) و سدیم سالیسیلات (i.p.)، در فاز اول (۱۰-۰ دقیقه) و فاز دوم (۶۰-۱۵ دقیقه) در کاهش درد ناشی از تست فرمالین.

فاز دوم (۶۰-۱۵)		فاز اول (۱۰-۰)		غلظت mg/kg	گروه n = ۹
درصد مهار	میانگین نسبی درد	درصد مهار	میانگین نسبی درد		
—	۲/۱۸±۰/۰۵	—	۲/۰۴±۰/۰۶	—	آب مقطر
۲۶/۹ *	۱/۴۹±۰/۱۵	۱۳/۷	۱/۸۸±۰/۰۷	۳۰۰	سدیم سالیسیلات
۳۹/۴ **	۱/۳۲±۰/۱۵	۳۴/۳ **	۱/۳۴±۰/۱۸	۶۲/۵	عصاره (i.p.)
۳۹/۹ **	۱/۳۱±۰/۰۹	۳۸/۷ **	۱/۲۵±۰/۱۶	۱۲۵	
۷۹/۹ **	۰/۷۷±۰/۱۵	۵۶/۹ **	۰/۹۷±۰/۰۹	۲۵۰	
۳۷/۶ **	۱/۳۶±۰/۰۴	۳۱/۳۷ **	۱/۴۰±۰/۱۲	۳۰۰	عصاره (p.o.)
۳۹ **	۱/۳۳±۰/۰۸	۳۶/۷ **	۱/۳۸±۰/۱۵	۵۰۰	

\* P<0.01 و \*\* P<0.001

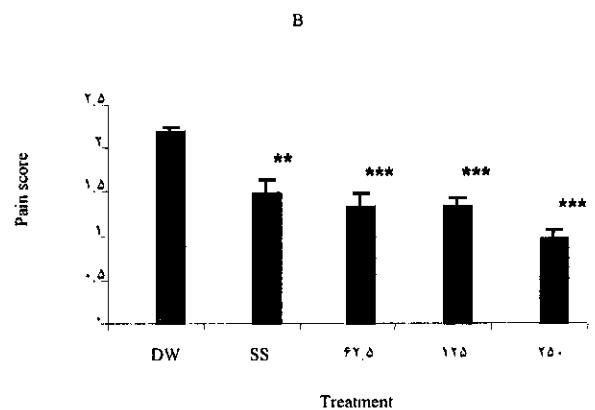
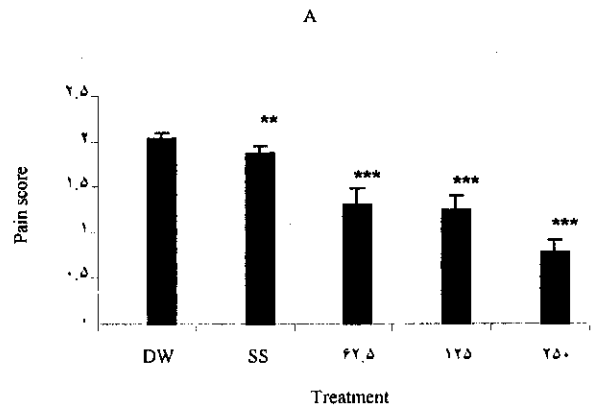
کاهش دادند (به ترتیب  $P < 0.01$ ،  $P < 0.001$  و  $P < 0.001$ )، بطوری که اثر بی‌دردی دوزهای عصاره در کاهش درد ناشی از آزمون فرمالین از اثر بی‌دردی سدیم سالیسیلات قوی‌تر بوده است. همچنین تجویز عصاره از راه داخل صفاقی مؤثرتر از راه خوراکی می‌باشد (نمودار ۱).

### بحث

درد ایجاد شده در آزمون فرمالین دارای دو فاز مشخص است. فاز اول به احتمال زیاد نتیجه تحریک مستقیم گیرنده‌های درد در پنجه پای حیوان می‌باشد در حالی که فاز دوم تا حد زیادی ناشی از فرآیند التهاب است [۸ و ۹ و ۱۰]. هرچند نقش حساس شدن مسیرهای مرکزی درد را نیز نباید از نظر دور داشت [۱۱].

عملکرد داروهای ضد درد بر این دو فاز متفاوت است بطوری که داروهایی مانند نازکوتیک‌ها (مرفین، میریدین) که غالباً مرکزی عمل می‌کنند، هر دو فاز را بطور یکسان مهار می‌کنند [۱۲] اما داروهایی که به صورت محیطی عمل می‌کنند مانند آسپیرین و دگزامتازون تنها قادر به مهار فاز دوم درد ناشی از فرمالین هستند [۱۳].

سدیم سالیسیلات از داروهای ضد التهاب غیراستروئیدی است که فقط فاز دوم این درد را مهار می‌کند (جدول ۱) و با گزارشهای فوق مطابقت دارد. این دارو درد را با مهار فعالیت آنزیم سیکلوآکسی ژناز کاهش می‌دهد [۱۴]. براساس گزارش‌های فوق، با توجه به این که عصاره بذر مرزه هر دو فاز درد فرمالین را بطور تقریباً یکسان مهار کردند (جدول ۱) می‌توان برای آنها عملکرد مرکزی پیشنهاد نمود، علاوه بر آن عصاره دارای آثار ضد التهاب نیز می‌باشد و از آنجا که التهاب به عنوان یک فرآیند محیطی مولد درد در فاز دوم تست فرمالین شناخته شده است [۱۵] می‌توان نتیجه گرفت که عصاره مورد استفاده عملکرد ضد درد محیطی نیز دارد.



نمودار ۱- اثر عصاره آبی بذر مرزه (۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰) روی فاز اول (A: دقیقه ۰-۱۰) و فاز دوم (B: دقیقه ۱۵-۶۰) آزمون فرمالین. اعداد به صورت Mean±SEM برای ۶ حیوان و در مقایسه با کنترل به دست آمده است.

\*  $P < 0.01$  and \*\*  $P < 0.001$  compared to control value.  
DW: distilled water; SS: sodium salicylate (300 mg/kg).

نتایج حاصل از آزمون فرمالین در (جدول ۱) نشان داده شده است. در فاز اول آزمون فرمالین دوز ۳۰۰ mg/kg سدیم سالیسیلات قادر به مهار درد بطور معنی‌دار نبود اما دوزهای ۳۰۰ و ۵۰۰ mg/kg خوراکی و ۶۲/۵ و ۱۲۵ و ۲۵۰ mg/kg داخل صفاقی عصاره، درد را بطور معنی‌داری کاهش دادند (به ترتیب  $P < 0.001$ ،  $P < 0.001$ ). در فاز دوم آزمون فرمالین دوز ۳۰۰ mg/kg سدیم سالیسیلات و دوزهای ۳۰۰ و ۵۰۰ mg/kg خوراکی و ۶۲/۵ و ۱۲۵ و ۲۵۰ mg/kg داخل صفاقی عصاره، درد را بطور معنی‌داری

تخفیف درد در هر دو مرحله آزمون فرمالین دارد، ضمن این که مشاهده می‌شود که در مرحله اول و دوم آزمون، عصاره با اختلاف معنی‌داری در کاهش درد مؤثرتر از سدیم سالیسیلات بوده‌است، همچنین تجویز داخل صفاقی عصاره از خوراکی آن مؤثرتر می‌باشد. بنابراین مطابق با این نتایج احتمالاً می‌توان پیشنهاد کرد که عصاره می‌تواند در کاهش درد از تأثیر مرکزی برخوردار باشد.

### تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان که هزینه این طرح را پرداخت نموده‌اند تشکر و قدردانی می‌شود.

آزمایش‌های فیتوشیمیایی (phytochemical) نشان داده که این عصاره دارای فلاونوئید (Flavonoid)، ترپنوئید (Terpenoid)، کارواکرول (Carvacrol) و گلیکوزیدهای قلبی است. برای فلاونوئیدها و ترپنوئیدها آثار ضدالتهاب و ضد درد گزارش شده است [۱۶]. اما در مورد گلیکوزیدهای قلبی چنین گزارشی وجود ندارد. از طرف دیگر بر هم کنش مستقیم فلاونوئیدها و سنتز پروستاگلاندین‌ها بطور قطعی مشخص شده است [۱۷]. بنابراین از میان کاندیداهای مختلف، احتمالاً فلاونوئیدها مهمترین مواد مؤثره این عصاره بر فرآیند درد می‌باشند.

بطور خلاصه، عصاره آبی بذر گیاه مرزه، از طریق خوراکی و داخل صفاقی، توانایی قابل ملاحظه‌ای در

### منابع

- [۱] دهپور، ا.ر.، موسوی‌زاده، ک. مبنای فارماکولوژی عوارض ناخواسته دارویی، رازی شماره ۱، سال ۱۳۶۹، ۳۰-۱۰.
- [۲] امین‌غ.، گیاهان دارویی سنتی ایران، معاونت پژوهشی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی. جلد اول. سال ۱۳۸۰، ص ۱۰۴-۱۰۳.
- [3] Elisabetsky E., Amador, T.A, Albuquerque, R.R., Nunes, D.S. and Carvalho, A.C.T. Analgesic activity of psychotria colorata (wild. EXR. A and S.) Muell. Arg. Alkaloids, *J. Ethnopharmacol.*, 48 (1995), 77-83.
- [4] Ghanndi, A., et al. Composition of essential oil of *satureja hortensis* L. grown in Iran. *Iranian J. Basic Med. Sci.*, 2,5-8.
- [5] D'Amour, F.E., and Smith, D.L. A method for determination loss of pain sensation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*; 72 (1941), 74-79.
- [6] Dubuisson, D., and Dennis, S.G. The formalin test: A quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rat and cats. *Pain*, 4 (1977), 161-174.
- [7] About, F.V., Franklin, K.B.J. and Westbrook, R.F. The formalin test: Scoring properties of the first and second phases of the pain response in rats. *Pain*, 60 (1995), 91-102.
- [8] Pugh, W.J., Sambo, K. Prostaglandin synthetase inhibitors in Feverfew, *J. Pharm. Pharmacol.*, 40 (1989) 743-745.
- [9] Hunskaar, S. and Hole, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain*, 30 (1987), 103-114.
- [10] Shibata, M., Ohkubo, T., Takahashi, H. and Inoki, R. Modified formalin test:

- Characteristic biphasic pain response. *Pain*, 38 (1989), 347-52.
- [11] Coderre, T.J. and Melzack, R., Central nervous system plasticity in the tonic pain response to subcutaneous formalin injection, *Brain Res.*, 535 (1990), 155-158.
- [12] Vaccarino, A.L., Tasker, R.A.R. and Melzack, R. Analgesia produced by normal doses of opioid antagonists alone and in combination with morphin. *Pain*, (1989), 36: 103-9.
- [13] Chen, Y.F., Tsai, H. Y. and Wu, T. S., Anti-inflammatory and analgesic activity from roots of angelica pybescens, *Planta Medica*, 61(1995), 2-8.
- [14] Levin, J. and Taiwo, Y. Inflammatory pain. In: *Text book of pain*, wall, P.D., Melzack (Eds). Churchill livingstone; (1994), P. 45-56.
- [15] Panthong, A., Tassaneeyakul, W., Kanjanapothi, D., Reutrakul, V. Anti-inflammatory activity of 5,7 dimethoxy flavon, *Planta Medica*, 55 (1989), 133-136.
- [16] Alcaraz, M.G. and Hoult, R.S. Actions of flavonoids and the novel anti – inflammatory flavone, Hypolaetin-8-Glucoside, on prostaglandin biosynthesis and inactivation. *Bio. Pharmacol*, 34(14) (1985), 2477-82.
- [17] Walker, J.S., and Levy, G. Effect of multiple dosing on the analgesic action of diflunizal in rats. *Life Sci*; 46 (1990), 737-42.