Archive of SID

مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۱۹، شماره۱، فروردین ۱۳۹۳(شماره پی در پی ۸٤)

اثر ضد دردی عصاره اتانولی بخش‌های هوایی گیاه مریم گلی پنبه‌ای در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نژاد NMRI

اکرم عیدی*

گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۵/۲٦ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: گیاهان دارویی برای سالیان متمادی در سراسر دنیا جهت تسکین درد استفاده شده‌اند. بسیاری از گونه‌های سالویا در سراسر دنیا در طب سنتی و آشپزی استفاده می‌شوند. هدف این مطالعه بررسی اثرات ضددردی عصاره اتانولی بخش‌های هوایی گیاه مریم گلی پنبه‌ای در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نژاد NMRI بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۱۲٦ سر موش کوچک آزمایشگاهی نژاد NMRI به صورت تصادفی انتخاب شده و جهت انجام سه آزمون فرمالین، صفحه داغ و اسید استیک استفاده گردیدند. در هر آزمون هفت گروه و در هر گروه شش موش قرار داشت. حیوانات با عصاره اتانولی بخش‌های هوایی گیاه مریم گلی پنبه‌ای با غلظت‌های ۱، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن یا مرفین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به عنوان داروی استاندارد تیمار شدند. حیوانات دست نخورده به عنوان کنترل در نظر گرفته شدند. گروه شاهد با سرم فیزیولوژیک تیمار شدند. در آزمون فرمالین، فرمالین به سطح پشتی پنجه پای راست تزریق گردید. حیوانات ٦۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین مشاهده گردیده و امتیاز درد ثبت گردید. امتیاز دریافت درد از صفر تا ۵ دقیقه (فاز اولیه) و ٦۰ـ۱۵ دقیقه (فاز ثانویه) پس از تزریق فرمالین شمارش گردید. در آزمون صفحه داغ، حیوان در صفحه داغ آلومینیومی با درجه حرارت ۰/۵±۵۵ سانتی‌گراد در ماکزیمم زمان ۳۰ ثانیه قرار گرفت. به دنبال لیسیدن پنجه پا و پریدن حیوان زمان واکنش در فواصل زمانی قبل از تیمار، ۱۵، ۳۰، ٤۵ و ٦۰ دقیقه پس از تیمار عصاره ثبت گردید. در آزمون اسید استیک، درد به وسیله تزریق اسید استیک القا گردید. تعداد انقباضات شکمی پس از تزریق اسید استیک شمارش گردید. فعالیت ضددردی به صورت مهار انقباضات شکمی ارائه گردید. داده‌ها با آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: عصاره گیاه فقط فاز ثانویه درد القاء شده به وسیله تست فرمالین را کاهش داد($p<۰/۰۵$). عصاره گیاه موجب کاهش انقباضات شکمی ایجاد شده به وسیله اسید استیک شد($p<۰/۰۵$). در تست صفحه داغ، عصاره اتانولی قادر به افزایش آستانه درد در مدت زمان ٦۰ دقیقه نبود.

نتیجه‌گیری: گیاه مریم گلی پنبه‌ای دارای اثر ضددردی در موش‌های کوچک آزمایشگاهی می‌باشد، ولی به منظور روشن شدن مکانیسم عمل اثر ضددردی عصاره اتانولی این گیاه تحقیق بیشتری مورد نیاز است.

واژه‌های کلیدی: فعالیت ضد دردی، موش کوچک آزمایشگاهی، درد، مریم گلی پنبه‌ای

***نویسنده مسئول: دکتر اکرم عیدی**، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

Email: eidi@srbiau.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

درد عمدتاً یک مکانیسم حفاظتی برای بدن است و به دنبال آسیب دیدن بافت‌ها ایجاد می‌گردد و بدین ترتیب شخص را وادار به واکنش به منظور حذف محرک دردزا می‌کند. کلیه گیرنده‌های درد در پوست و سایر بافت‌ها در انتهای آزاد سلول‌های عصبی از جمله در لایه‌های سطحی پوست، پریوست، سطوح مفصلی، عضلات و سایر نواحی گسترده شده‌اند، گیرنده‌های درد به وسیله محرک‌های مکانیکی، شیمیایی و حرارتی فعال می‌شوند(۱). درد حاد و پاسخ‌های مربوطه به وسیله تحریکات دردناک ناشی از صدمات یا بیماری‌های پوستی، ساختمان‌های سوماتیک عمقی، احشاء یا عملکرد غیرطبیعی عضلات یا احشاء برانگیخته می‌شود. درد حاد یا درد سریع به وسیله فیبرهای Aδ انتقال می‌یابد. درد مزمن یک ثانیه و حتی بیشتر از تحریک به وسیله عامل دردزا شروع شده و به مدت چند ثانیه یا چند دقیقه ادامه می‌یابد. این درد از تحریک فیبرهای نوع C ایجاد می‌شود(۲).

اثر آنالژزیک اپیات‌ها از طریق عمل بر گیرنده‌های اپیوئیدی (مو، کاپا و سیگما) در سیستم عصبی مرکزی عموماً در نظر گرفته شده است. هرچند مرفین به عنوان قوی‌ترین تسکین دهنده درد استفاده می‌شود، ولی دارای عوارض جانبی از جمله وابستگی، تنگی نفس، کاهش حرکات سیستم معدی ـ روده‌ای و تغییر در فعالیت سیستم عصبی خودکار و اندوکرین می‌باشد. داروهای ضد درد غیر اوپیوئیدی ترکیباتی با قدرت اندک و عوارض جانبی می باشند، اما زمانی که همراه با اوپیوئیدها استفاده شوند باعث کاهش دوز مواد اوپیوئیدی خواهند شد. داروهای غیراوپیوئیدی شامل داروهای غیراستروئیدی ضدالتهابی[۱]، استامینوفن، آنتاگونیست‌های NMDA[۲]، کتامین، دکسترومتورفان، آنتاگونیست‌های α_2- آدرنرژیک می‌باشند(۳). NSAIDs سنتز پروستاگلاندین‌ها را در نخاع شوکی و محیط مهار می‌نمایند و با مهار سیکلواکسیژناز ۲ نقش مهمی را در تعدیل درد بازی می‌کنند(٤). استامینوفن مهار کننده سنتز پروستاگلاندین‌ها عمدتاً در سیستم عصبی مرکزی و به صورت کمتر در سیستم عصبی محیطی است(٥). آنتاگونیست‌های NMDA به عنوان داروهای ضد درد استفاده می‌شوند. گلوتامات نوروترانسمیتر تحریکی مهمی در سیستم عصبی مرکزی است. بلوکه نمودن گیرنده‌های گلوتامات جهت مهار انتقال درد استفاده می‌گردد(٦). کتامین ماده‌ای آنالژزیک است که به صورت غیررقابتی به عنوان آنتاگونیست گیرنده NMDA عمل می‌نماید(۷). دکسترومتورفان با آنتاگونیزه نمودن گیرنده‌های NMDA اثرات ضددردی خود را ایفا می‌نماید. هرچند دکسترومتورفان همانند کتامین بلوکر کانال است، ولی عوارض کمتری دارد که احتمالاً به دلیل تمایل کمتر آن جهت اتصال به گیرنده NMDA می‌باشد (۸). گیرنده α_2- آدرنرژیک در شاخ پشتی نخاع قرار دارد و اولین مکانی است که باعث مهار درد پیکری می‌شود. هم‌چنین گیرنده در مغز

1- No Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs)
2-N-methyl-D-Aspartate (NMDA)

www.SID.ir

Archive of SID

وجود دارد و اثرات تسکینی را ایجاد می‌نماید. به دلیل عوارض جانبی دارو با مهار سیستم سمپاتیک استفاده از این دسته دارویی توصیه نمی‌گردد(۹). بشر در سالیان دراز درمان‌های مختلفی از جمله کاربرد گیاهان دارویی برای تسکین درد را استفاده نموده است. استفاده از گیاهان دارویی به دلیل سمیت پایین و عوارض جانبی کمتر در مقایسه با داروهای سنتتیک مورد توجه قرار گرفته است(۱۰).

گیاه مریم گلی پنبه‌ای[۱] از تیره نعناعیان[۲]، گیاهی دو ساله یا پایا، به رنگ سبز، ایستاده، پوشیده از تار کرک‌های بلند و غده می‌باشد. گل‌های گیاه به رنگ سفید، مجتمع در گل‌آذینی بسیار بزرگ شاخه‌های شمعدان هستند. موسم گل‌دهی گیاه اردیبهشت ـ خرداد ماه است. انتشار جغرافیایی گیاه در نواحی شمال شرقی (بجنورد)، شمال (گیلان) و شمال غربی (خوی، اهر، اردبیل و آستارا) کشور می‌باشد (۱۱). اسانس به دست آمده از بخش‌های هوایی گیاه عمدتا حاوی β-caryophyllene (21%)، α-copaene و germacrene D (18.6%) می‌باشد(۱۲). وجود سسترترپن‌ها در این گیاه گزارش شده است(۱۳). گیاه دارای ترکیبات aethiopinone و spathulenol است(۱۴و۱۵). گیاه دارای خصوصیات ضدباکتریایی می‌باشد(۱۴).

با توجه به لزوم احیای طب سنتی و شناسایی اثرات ضددردی گیاهان دارویی موجود در طبیعت که دارای آثار درمانی با ارزشی هستند، هدف این مطالعه بررسی اثر ضددردی تیمار خوراکی بخش‌های هوایی گیاه مریم گلی پنبه‌ای در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر بالغ نژاد NMRI بود.

روش بررسی

این مطالعه تجربی، بعد از کسب مجوز از کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران و رعایت کدهای اخلاقی در حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر بالغ نژاد NMRI با محدوده وزنی ۳۰ـ۲۵ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شده و در اتاق حیوانات با درجه حرارت کنترل شده ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و نیز رطوبت نسبی ٤٠ تا ٦٠ درصد نگهداری شدند. حیوانات در گروه‌های ٦ تایی در قفس‌های پلکسی گلاس نگهداری شدند و به استثنای زمان آزمایش به آب و غذا دسترسی داشتند. هر حیوان فقط یک‌بار مورد آزمایش قرار گرفت. حیوانات مجموعا در ۲۱ گروه قرار داشتند. تعداد حیوانات در هر گروه ٦ سر می‌باشد. حیوانات در هر یک از آزمایش‌های فرمالین، اسید استیک و صفحه داغ در ۷ گروه به این شرح قرار گرفتند؛ گروه ۱ (گروه کنترل)؛ موش‌هایی که هیچ‌گونه تیماری دریافت نکرده‌اند. گروه ۲ (شاهد)؛ موش‌هایی که سرم فیزیولوژیک (حلال عصاره) را دریافت نمودند. گروه‌های ٦ـ۳؛ موش‌هایی که عصاره اتانلی گیاه را با

1-*Salvia aethiopis*
2-Labiatae/Lamiaceae

www.SID.ir

Archive of SID

دوزهـای ۱، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلـی‌گـرم بـر کیلـوگرم دریافت نمودند و گروه ۷؛ موش‌هایی که مرفـین را بـا دوز ۱۰ میلـی‌گـرم بـر کیلـوگرم وزن بـدن دریافـت نمودند.

گیاه مریم گلی پنبه‌ای از منطقه لوشان، اطـراف تهران جمع‌آوری شـده و در هربـاریوم دانشـگاه آزاد اســلامی واحــد علــوم و تحقیقــات تهــران از نظــر تاگزونومیکی مورد شناسایی قرار گرفت. بخـش‌هـای هوایی گیاه در درجه حرارت ۲۵ درجه سـانتی‌گـراد و در شرایط سایه خشـک شـده، بـا اسـتفاده از آسـیاب مکانیکی به صورت پودر درآمد. پودر خشک تا زمـان آزمـایش در فریـزر یخچـال نگهـداری گردیـد. سـپس عصاره الکلی گیاه با اسـتفاده از دسـتگاه سوکسـله و اتانول ۸۰ درصد به دست آمده و بـه وسـیله دسـتگاه روتاری خشک گردید.

جهـت انجـام آزمـایش از جعبـه شیشـه‌ای بـه ابعاد۳۰ × ۱۳×۱۲ سانتی‌متر استفاده گردیـد و طـوری ساخته شـد کـه در فاصـله‌ای از جعبـه و سـطح افـق، آیینه‌ای با زاویه ٤٥ درجه قرار گرفت تـا مشـاهدات را آسان‌تر می‌کند. در روز آزمایش هر حیـوان ۳۰ دقیقـه قبل از شروع آزمـایش در جعبـه شیشـه‌ای قـرار داده شد تا به محیط عادت کند. ابتدا ۰/۲ میلی‌لیتـر عصـاره یا مرفین به صورت درون صفاقی بـه حیـوان تزریـق شد و بعد از ۱۵ دقیقه، مقـدار ۵۰ میکرولیتـر فرمـالین ۲/۵ درصد به صورت زیرجلدی به سـطح پشـتی پـای راست حیوان تزریق شد. مدت زمانی (برحسب ثانیـه) که صـرف لیسـیدن و گـاز گـرفتن پـای تزریـق شـده می‌شود، در دوره‌های زمانی ٥ـ۰ دقیقـه(فـاز اولیـه) و سپس ٦۰ـ۱۵ دقیقه (فاز ثانویه) به عنوان شاخص درد اندازه‌گیری می‌شود. نحوه نمـره‌گـذاری بـدین ترتیـب می‌باشد؛ امتیاز صفر: هـر دو پنجـه حیـوان روی کـف جعبه قرار گرفته‌اند، وزن حیوان به طور مساوی روی آنها قرار دارد. حین حرکت نیز ترجیح اختیـاری جهـت استفاده از پنجه مقابل وجود نـدارد. امتیـاز یـک؛ پـای تزریق به آرامی روی کـف یـا بخشـی از بـدن حیـوان قرار گرفته و فشار کمی روی آن اعمال می‌شود. حـین حرکت لنگیدن به صورت واضح دیده می‌شـود. امتیـاز دو؛ پای تزریق کاملا از کف جعبه برداشته می‌شـود و تماسی با سطح ندارد. پـای مقابـل محکـم روی سـطح قرار گرفته است. امتیاز سه؛ حیوان پای تزریق شده را لیس می‌زند، گاز می‌گیرد یا به شـدت مـی‌لرزانـد. ایـن حرکت به طور مشخصی با حرکات حیوان جهت تمیـز کردن خودش متفاوت است. گرچه تبدیل شدن یکی بـه دیگری ممکن است دیده شود (۱۷و۱٦).

برای انجام تسـت اسـید اسـتیک؛ مـوش‌هـا بـا عصاره یا مرفین به حجـم ۰/۲ میلـی‌لیتـر بـه صـورت درون صـفاقی تیمـار شـدند. بعـد از ۳۰ دقیقـه ۰/۲ میلی‌لیتر اسید اسـتیک یـک درصـد بـه صـورت درون صفاقی تزریق شد. تزریق درون صفاقی اسید اسـتیک باعث انقبـاض شـکمی تـوأم بـا کشـیدن پاهـای عقبـی می‌شود. ٥ دقیقه بعـد از تزریـق اسـید اسـتیک، تعـداد انقباضات شـکمی در مـدت زمـان ۲۰ دقیقـه شـمارش گردید(۱۸).

برای انجام تست صفحه داغ، ابتدا حیوانـات بـا عصاره یا مرفین به حجـم ۰/۲ میلـی‌لیتـر بـه صـورت درون صفاقی تیمـار شـدند. مـوش‌هـا قبـل از تزریـق (دقیقه صفر) و نیز در دقـایق ۱۵، ۳۰، ٤٥ و٦۰ بعـد از تزریــق بــر روی صــفحه داغ بــا دمــای ٥٦ درجــه

www.SID.ir

Archive of SID

سانتی‌گراد قرار گرفتند و زمان عکس‌العمل روی صفحه داغ اندازه‌گیری شد. عکس‌العمل حیوان شامل پریدن یا لیسیدن یکی از پنجه‌های عقبی یا جلویی می‌باشد. برای جلوگیری از آسیب بافتی، اگر حیوانات بعد از ۲۰ ثانیه هیچ گونه واکنشی نداشتند از روی صفحه برداشته می شدند(۱۹).

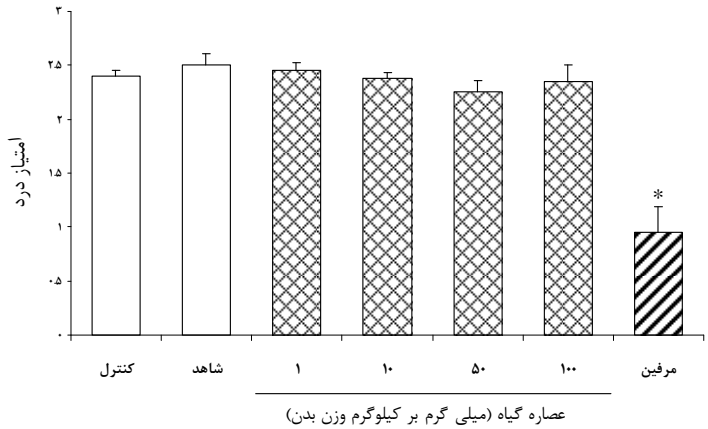
داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

نتایج نشان داد که تزریق درون صفاقی عصاره اتانلی بخش‌های هوایی گیاه مریم گلی پنبه‌ای در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش فاز ثانویه و نه فاز اولیه درد القاء شده به وسیله تست فرمالین در موش نر بالغ می‌گردد. تزریق درون صفاقی مرفین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش معنی‌دار هر دو فاز اولیه و ثانویه درد القاء شده به وسیله تست فرمالین در موش می‌گردد. تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های کنترل و شاهد وجود ندارد(نمودارهای ۱ و ۲).

هم‌چنین نتایج نشان داد که تزریق درون‌صفاقی عصاره اتانولی بخش‌های هوایی گیاه مریم گلی پنبه‌ای در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و مرفین در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش انقباض شکمی القاء شده به وسیله تست اسید استیک در موش نر بالغ می‌شود. تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های کنترل و شاهد وجود ندارد(نمودار ۳).

بر اساس نتایج حاصله، تزریق درون‌صفاقی عصاره اتانلی بخش‌هایی هوایی گیاه مریم گلی پنبه‌ای در دوزهای ۱، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن باعث تأخیر معنی‌داری در پاسخ القاء شده به وسیله صفحه داغ در موش نر بالغ نمی‌گردد. مرفین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موجب تأخیر معنی‌داری در پاسخ القاء شده به وسیله صفحه داغ می‌گردد. تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های کنترل و شاهد وجود ندارد(جدول ۱).

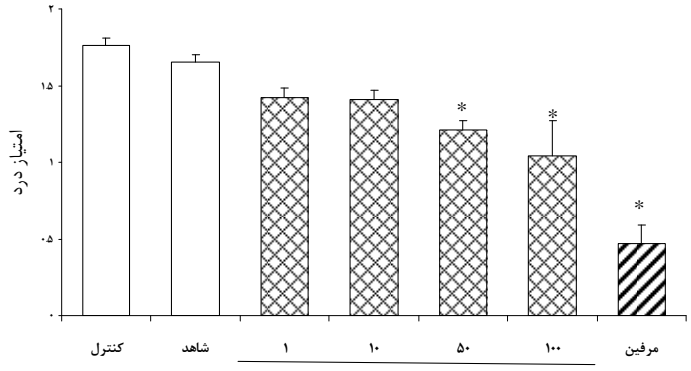


نمودار ۱: مقایسه اثر تزریق درون‌صفاقی عصاره اتانلی بخش‌های هوایی گیاه مریم گلی پنبه‌ای در دوزهای مختلف مرفین بر فاز اولیه درد القاء شده به وسیله تست فرمالین در موش کوچک آزمایشگاهی

* اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد و کنترل ($p<۰/۰۵$)

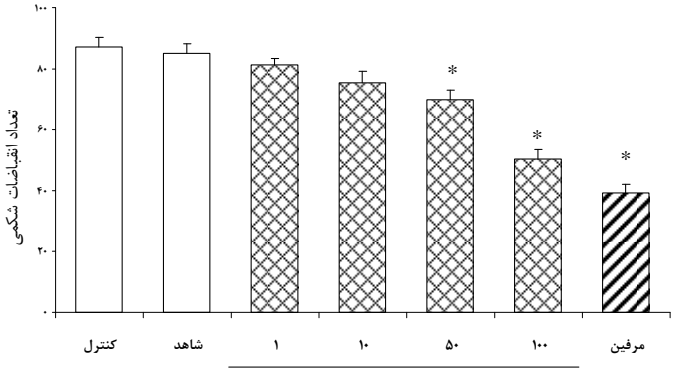
www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۲: مقایسه اثر تزریق درون‌صفاقی عصاره اتانلی بخش‌های هوایی گیاه مریم گلی پنبه‌ای و مرفین بر فاز ثانویه درد القاء شده به وسیله تست فرمالین در موش کوچک آزمایشگاهی نر

* اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد و کنترل (p<۰/۰۵)



نمودار ۳: مقایسه اثر تزریق درون صفاقی عصاره اتانلی بخش‌های هوایی گیاه مریم گلی پنبه‌ای و مرفین بر انقباضات شکمی القاء شده به وسیله تست اسید استیک در موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ

* اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد و کنترل (p<۰/۰۵)

جدول ۱: اثر تزریق درون‌صفاقی عصاره اتانلی بخش‌های هوایی گیاه مریم گلی پنبه‌ای و مرفین در مدت زمان تأخیر در پاسخ القاء شده به وسیله صفحه داغ در موش کوچک آزمایشگاهی نر

زمان(دقیقه) / گروه	صفر	۱۵	۳۰	۴۵	۶۰
کنترل	۲/۸ ± ۰/۰۷	۳/۸ ± ۰/۱	۲/۴ ± ۰/۳	۲/۵ ± ۰/۲	۲/۸ ± ۰/۲
شاهد	۲/۰ ± ۰/۰۵	۳/۳ ± ۰/۲	۳/۰ ± ۰/۴	۳/۲ ± ۰/۶	۲/۹ ± ۰/۳
عصاره گیاه (میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن)؛					
۱	۲/۳ ± ۰/۰۶	۳/۷ ± ۰/۱۵	۳/۶ ± ۰/۳۵	۳/۶ ± ۰/۵	۲/۸ ± ۰/۵
۱۰	۲/۴ ± ۰/۰۹	۳/۰ ± ۰/۱۴	۳/۳ ± ۰/۲۴	۲/۷ ± ۰/۵۳	۲/۲ ± ۰/۴
۵۰	۲/۸ ± ۰/۰۳	۲/۲ ± ۰/۲۳	۲/۵ ± ۰/۳	۲/۷ ± ۰/۴۴	۲/۴ ± ۰/۵
۱۰۰	۲/۵ ± ۰/۱	۲/۴ ± ۰/۳	۲/۷ ± ۰/۵	۳/۰ ± ۰/۶	۲/۶ ± ۰/۷
مرفین	۲/۵ ± ۰/۱۵	* ۴/۹ ± ۰/۲۵	* ۵/۸ ± ۰/۴۵	* ۶/۵ ± ۰/۷	* ۶/۴ ± ۰/۹

* اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد و کنترل (p<۰/۰۵)

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

نتایج مطالعه نشان داد که عصاره الکلی گیاه مریم گلی پنبه‌ای دارای اثرات ضد دردی محیطی است. نتایج تحقیق حاضر حاکی از آن است که گیاه تأثیری بر فاز اولیه درد القاء شده به وسیله تست فرمالین در موش کوچک آزمایشگاهی ندارد، در حالی که عصاره گیاه به صورت وابسته به دوز فاز ثانویه درد القاء شده به وسیله تست فرمالین را به صورت معنی‌داری کاهش می‌دهد. عصاره الکلی گیاه به صورت وابسته به دوز بروز انقباضات شکمی القا شده با اسید استیک را به صورت معنی‌داری در موش کوچک آزمایشگاهی کاهش می‌دهد. عصاره الکلی گیاه تغییر معنی‌داری در مدت زمان تأخیر در پاسخ القاء شده به وسیله آزمون هات پلیت ایجاد نمی‌نماید. با توجه به نتایج تحقیق حاضر و از آنجایی که عصاره گیاه بر فاز اولیه درد القاء شده به وسیله تست فرمالین و پاسخ القاء شده به وسیله آزمون‌هات پلیت تأثیر معنی‌داری ندارد، بنابراین گیاه دارای اثرات ضددردی مرکزی نمی‌باشد. از طرف دیگر عصاره گیاه فاز ثانویه درد القاء شده به وسیله تست فرمالین و بروز پاسخ انقباضات شکمی القا شده با اسید استیک را به صورت معنی‌داری کاهش می‌دهد، بنابراین گیاه دارای اثرات ضددردی محیطی می‌باشد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر دوز اپتیمم عصاره گیاه ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تعیین گردید. دوز مذکور حداقل میزانی است که می‌تواند پاسخ معنی‌داری در کاهش درد القا شده در هر دو تست (اسید استیک و فاز ثانویه تست فرمالین) ایجاد نماید.

ترکیبات شیمیایی بسیاری از گیاهان با خصوصیات ضد دردی شناسایی شده‌اند که از جمله می‌توان به گروه فنانتون همراه یا بدون gama-phenyl-N-methyl-piperidine موجود در آلکالوئیدها، کانابینوئیدها، سالیسین و سالسیلیک اسید و تعداد وسیعی از آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، کاپساسینوئیدها، استروئیدها، فلاونوئیدها، گزانتین‌ها، تامین‌ها، گزافتون‌ها، لیگان‌ها، ساپونین‌ها، لاکتون‌ها، گلیکوزیدها اشاره نمود(۲۰). گیاه مریم گلی پنبه‌ای مورد بررسی در تحقیق حاضر با دارا بودن بخشی از ترکیبات فوق اثرات ضددردی خود را ایفا می‌کنند. مشخص شده است که تری‌ترپنوئیدها، betulinic، oleanolic و ursolic acids دارای فعالیت‌های ضددردی می‌باشند (۲۱). ursolic acids مهار کننده انتخابی سیکلواکسیژناز ـ۲ می‌باشد(۲۲). گزارش شده است که اثر ضددردی oleanolic acid با دخالت مکانیسم اوپیوئیدی صورت می‌گیرد که احتمالاً از طریق گیرنده‌های وانیلوئیدی مدوله می‌گردد(۲۳). 1,8-cineole دارای اثرات ضددردی و ضد التهابی می‌باشد(۲٤).

ترکیبات اسانس گیاهان جنس سالویا شامل؛ فلاون‌ها، فنولیک اسید، گلیکوزیدهای فنیل پروپانوئید، تری‌ترپنوئیدها و دی‌ترپن‌ها که شامل فنولیک، کوئینوایدال می‌باشد. گزارش های حاکی از آن است که ترکیبات مهم اسانس گیاهان این جنس شامل

www.SID.ir

Archive of SID

cis - and trans – thujone می‌باشد. هم‌چنین اسانس برخی گونه‌ها مانند مریم گلی خواص آنتی‌اکسیدان و محافظ کننده کبدی دارد، هر چند که پتانسیل اثرات محافظ کبدی اسانس برگ گیاه مریم گلی هنوز ناشناخته باقی مانده است(۲۵).

مهم‌ترین ویژگی تست فرمالین این است که جوندگان دو نوع پاسخ به درد را نشان می‌دهند که ظاهراً از طریق دو مکانیسم مختلف عمل می‌کنند. مرحله اول بلافاصله بعد از تزریق فرمالین ظاهر می‌شود که به مدت ٥ دقیقه طول می‌کشد. ظاهراً این درد به علت تحریک شیمیایی مستقیم گیرنده‌های درد است. شواهد نشان می‌دهد که فرمالین، به خصوص فعالیت رشته‌های C را زیاد می‌کند و عمل آن از طریق فیبرهای Aδ صورت نمی‌گیرد. در فاصله ۱۵ دقیقه بعد از تزریق فرمالین، حیوان رفتار خاصی از خود نشان نمی‌دهد، بعد از ۲۰ــ۱۵ دقیقه فاز دوم درد شروع می‌شود و حیوان دوباره شروع به لیسیدن پای مربوطه را ادامه می‌دهد که حدوداً ٤٠ دقیقه طول می‌کشد. بنابراین دو نوع درد، با دو مکانیسم مختلف وجود دارد. مطالعات مختلف نشان می‌دهد که ماده P و برادی‌کینین در فاز اول نقش دارند، در حالی که در فاز دوم، هیستامین، سروتونین، پروستاگلاندین و برادی‌کینین نقش دارند(٢٦).

در تست انقباضات شکمی، اسید استیک تزریق شده به صورت درون صفاقی موجب افزایش پروستاگلاندین‌ها در سطح مایع صفاقی می‌گردد و بخشی از گیرنده‌های صفاقی را درگیر می‌نماید و سبب القاء درد التهابی به وسیله القاء نفوذپذیری مویرگی می‌گردد. اگر چه این تست کاملاً تخصصی نمی‌باشد، ولی روش بسیار حساسی برای نشان دادن اثرات ضددردی پیچیده می‌باشد. اثرات مشاهده شده همچنین پیشنهاد می‌کنند که احتمالاً پروستاگلاندین‌ها در عمل ضددردی گیاهان مورد بررسی درگیر شده باشند. فعالیت ضددردی آگونیست اوپیوئیدی، پارشیال آگونیست و نمایندگان ضدالتهابی غیراستروئیدی را می‌توان به وسیله تست انقباضات شکمی شناسایی نمود(۲۷). انقباضات شکمی وابسته به حساسیت گیرنده‌های درد به پروستاگلاندین‌ها می‌باشد. بنابراین احتمالاً گیاهان مورد استفاده اثرات ضددردی خود را از طریق سنتز مهارکنندگان یا فعالیت پروستاگلاندین‌ها القاء می‌نماید. بنابراین عملکرد ضد دردی این گیاهان احتمالاً ناشی از سرکوب پروستاگلاندین اکسیژناز و تنظیم گیرنده‌های درد می‌باشد(۲۸). وجود لاکتون‌های سسکوی‌ترپن در گیاهان جنس سالویا شناسایی شده است(۲۹). مکانیسم عمکرد لاکتون‌های سسکوی‌ترپن احتمالاً از طریق مهار سیکلواکسیژناز و سیتوکین‌های پیش‌التهابی در ماکروفاژها صورت می‌گیرد(۳۰). میانجی‌کننده‌های التهاب اسید آراشیدونیک را در تنوعی از جمعیت‌های سلولی مختلف تولید می‌کنند که منجر به تشکیل پروستانوئیدها(مانند پروستاگلاندین‌ها و ترومبوکسان‌ها) از طریق مسیر سیکلواکسیژناز و لوکوترین‌ها از طریق مسیر لیپواکسیژناز می‌شود. مهار سیکلواکسیژناز به وسیله

www.SID.ir

Archive of SID

داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی منجر به جلوگیری از تشکیل پروستاگلاندین و بنابراین ایجاد آنالژزیک و اثرات ضد التهابی می‌شود(۳۱).

آزمایش هات پلیت یک مدل درد حاد فوق نخاعی است. درد حاد هم در جانوران و هم در انسان شرایطی است که به پاتولوژی مرتبط نیست، بنابراین بی‌شباهت به درد التهابی و نوروپاتیک که در آنها علایم ثابت بیماری توسعه می‌یابند، مدل‌های درد حاد رفتارهای دفاعی خود به خود ایجاد می‌کند(۳۲). گیاه مریم گلی پنبه‌ای دارای ترکیب aethiopinone می‌باشد. گزارش شده است که این ترکیب دارای اثرات ضددردی است(۳۳). گیاه دارای ترکیب کاروفیلن می‌باشد، کاروفیلن دارای فعالیت ضدالتهابی است که موجب توقف تولید نیتریک اکساید از طریق ماکروفاژهای تحریک شده به وسیله لیپوپلی‌ساکارید می‌گردد. ترکیب کاروفیلن در گونه‌های دیگر جنس سالویا نیز گزارش شده است(۳٤).

نتیجه‌گیری

در مجموع این مطالعه نشان داد که تیمار عصاره الکلی بخش‌های هوایی گیاه مریم گلی پنبه‌ای موجب کاهش درد مزمن القاء شده به وسیله تست‌های فرمالین و اسید استیک می‌شود. تحقیقات بیشتری جهت روشن شدن مکانیسم عمل گیاه مورد مطالعه و ترکیبات مؤثر در عملکرد گیاه مورد نیاز است تا بتوان خاصیت درمانی گیاه را به روشنی مورد توجه قرار داد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل طرح تحقیقاتی مصوب صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

REFERENCES

1.Serpell M. Anatomy, physiology and pharmacology of pain. Surgery 2006; 24:350-3.
2.Matthews EA, Dickenson AH. Pain pathophysiology, Pain Medicine Manual 2004;3: 11-28.
3.Buvanendran A, Reuben SS, Kroin JS. Recent advances in nonopioid analgesics for acute pain management. Techniques in Regional Anesthesia and Pain Management 2007; 11: 19-26.
4.McCormack K. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and spinal nociceptive processing. Pain 1994; 59: 9-43.
5.Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KL. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. Proc Natl Acad Sci 2002; 99: 13926-31.
6.Salter MW. Cellular signaling pathways of signal pain neuroplasticity as targets for analgesic development. Curr Top Med Chem 2005; 5: 557-67.
7.Subramaniam K, Subramaniam B, Steinbrook RA. Ketamine as adjuvant analgesic to opioids: a quantitative and qualitative systemic review. Anesth Analg 2004; 99: 482-95.
8.Duedahl TH, Dirks J, Petersen KB. Intravenous dextromethorphan to human volunteers: relationship between pharmacokinetics and anti-hyperalgesic effect. Pain 2005; 113: 360-8.
9.Eisenach JC, Tong C. Site of hemodynamic effects of intrathecal α_2 adrenergic agonists. Anesthsiology 1991; 74: 766-71.
10.Almeidal RN, Navarro DS, Barbosa-Filho JM. Plants with central analgesic activity. Phytomedicine 2001; 8: 310-22.
11.Ghahreman A. Flora of Iran. 1997; Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran; 1597; 13.
12.Tajbakhsh M, Rineh A, Khalilzadeh MA, Eslami B. Chemical constituents of the essential oils from leaves, flowers, stem and aerial parts of *Salvia aethiopis* L. from Iran. J Eessent Oil Res 2007; 19: 569-71**.**
13.Gonzalez MS, Sansegundo JM, Grande MC, Medarde M, Bellido IS. Sesterterpene lactones from *Salvia aethiopis*. Salviaethiopisolide and 13-epi-salviaethiopisolide**.** Tetrahedron 1989; 45: 3575-82.
14.Hernandez-Perez M, Rabanal RM, Arias A, de La Torre MC, Rodriguez B. Aethiopinone, an antibacterial and cytotoxic agent from *Salvia aethiopis* roots. Pharm Biology 1999; 37: 17-21.
15.Torres M, Velasco-Negueruela A, Pérez-Alonso M, Pinilla M. Volatile constituents of two *Salvia* species grow wild in Spain. J Essent Oil Res 1997; 9: 28-33.
16.Moore PK, Oluyomi AO, Babbedge RC, Wallace P, Hart SL. l-NG-nitro arginine methyl ester exhibits antinociceptive activity in the mouse. Br J Pharmacol 1991; 102: 198-202.
17.Hunskaar S, Fasmer OB, Hole K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. J Neurosci Methods 1985; 14: 69-76.
18.Collier HDJ, Dinnin LC, Johnson CA, Schneider C. The abdominal response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. Br J Pharmacol Chemother 1968; 32: 295-310.
19.Franzotti EM, Santos CVF, Rodrigues HMSL, Mourao RHV, Andrade MR, Antoniolli AR. Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Sida cordifolia* L. (Malva-branca). J Ethnopharmacol 2000; 72: 273-7.
20.Calixto JB, Beirith A, Ferreira J, Santos ARS, Cechinel Filho V, Yunes RA. Naturally occurring antinociceptive substances from plants. Phytother Res 2000; 14: 401-18.
21.Aguirre MC, Delporte C, Backhouse N, Erazo S, Letelier ME, Cassels BK, et al. Topical anti-inflammatory activity of 2-β-hydroxy pentacyclic triterpene acids from the leaves of *Ugni molinae*. Bioorgan Med Chem 2006; 14: 5673-7.
22.Ringbom T, Segura L, Noreen Y, Perera P, Bohlin L. Ursolic acid from *Plantago major*, a selective inhibitor of cyclooxygenase-2 catalyzed prostaglandin biosynthesis. J Nat Prod 1998; 61: 1212-5.
23.Maia JL, Lima-Junior RC, David JP, David JM, Santos FA, Rao VS. Oleanolic acid, a pentacyclic triterpene attenuates the mustard oil induced colonic nociception in mice. Biol Pharm Bull 2006; 29: 82-5.
24.Santos FA, Rao VSN. Antiinflammatory and antinociceptive effects of 1,8-cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils. Phytother Res 2000; 14: 240-4.
25.Lu Y, Foo LY. Polyphenolics of *Salvia* – a review. Phytochemistry 2002; 59: 117-40.
26.Fejes SZ, Blazovics A, Lemberkovics E, Petri G, Szoke E, Kery A. Free radical scavenging and membrane protective effects of methanol extracts from *Anthriscus cerefolium* L. (Hoffim) and *Petroselinum crispum*. Phytother Res 2000; 4: 362-5.

www.SID.ir

Archive of SID

27.Vogel HG. Drug discovery and evolution. Pharmacol Assays 1997; 402-3.
28.Ferreira SH. Prostaglandins aspirin-like drugs and analgesia. Nat New Biol 1972; 240: 200-3.
29.Rustaiyan A, Koussari S. Further sesquiterpenes from *Salvia hypoleuca.* Phytochemistry 1988; 27: 767-9.
30.Hwang D, Fischer NH, Jang BC, Tak H. Inhibition of the expression of inducible cycloxygenase and proinflammatory cytokines by sesquiterpene lactones in macrophages correlates with the inhibition of MAP kinases. Biochem Biophys Res Commun 1996; 226: 810-8.
31.Moskowitz MA, Buzzi MG. Neuroeffector function of sensory fibers. Implication for headache mechanisms and drug actions. J Neural 1991; 238: 18-22.
32.Casarrubea M, Sorbera F, Crescimanno G. Effects of 7-OH-DPAT and U99194 on the behavioral response to the hot plate test in rats. Physiol Behav 2006; 89: 552-62.
33.Hernández-Perez M, Rabanal RM, de la Torre MC, Rodriguez B. Analgesic, anti-inflammatory, antipyretic and haematological effects of aethiopinone, an o-naphthoquinone diterpenoid from *Salvia aethiopis* roots and two hemisynthetic derivatives. Planta Medica 1995; 61: 505-9.
34.Yu-Tang T, Meng-Thong C, Sheng-Yang W, Shang-Tzen C. Anti-inflammation activities of essential oil and its constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) twigs. Bioresource Technol 2008; 99: 3908-13.

www.SID.ir

Archive of SID

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Antinociceptive Effects of Ethanolic Extract of *Salvia aethiopis* in NMRI Mice

Eidi A*

Department of Biology,Tehran Science and Research Branch,Islamic Azad University,Tehran,Iran

Received: 17 Aug 2013 Accepted: 12 Dec 2013

Abstract

Background & aim: Herbal medicine has been used to relieve pain around the world for many years. The aim of this study was to evaluate the analgesic effect of ethanol extract on the aerial parts of *Salvia aethiopis* in NMRI mice.

Methods: In the present experimental study, 126 mice (NMRI) were randomly selected and used for formalin, hot plate and acetic acid test. In every experiment there were seven groups of six mice.The rats were administrated with *Salvia aethiopis ex*tract at concentrations of (1, 10, 50 and 100 mg/kg body wt.) or morphine at concentration of (10 mg/kg body wt.) as the standard drug. The intact animals were used as controls and the control group was treated with saline. In the formalin test, formalin was injected into the dorsal surface of the right paw. The animals were observed for 45 min after injection of formalin and pain scores were recorded. After formalin injection, the pain rated from 0 to 5 min (early phase) and 15-45 min (second phase) were counted. In hot plate test, rats were placed on an aluminum hot plate kept at a temperature of 55 ± 0.5°C for a maximum time of 30 s. Reaction time was recorded when the animals licked their fore and hind paws and jumped at 0 and 15, 30, 45 and 60 min after intraperitoneal administration of the extract. In acetic acid experiment, the induced pain was counted by acetic acid administration. The number of abdominal constrictions induced by acetic acid were subsequently counted. The analgesic activity of the abdominal contractions were inhibited. The data were analysis by of one-way ANOVA test.

Results: The results showed that the extract decreased only the second phase of formalin-induced pain ($p<0.05$). the extract reduced the cramps induced by acetic acid ($p<0.05$). In the hot plate test, the ethanolic extract was able to increase the pain threshold during 60 min.

Conclusion: The present data indicated that this plant had an antinociceptive effect on the mice, but more research is needed to clarify the mechanism of action of the analgesic effect of ethanolic extract of *Salvia aethiopis*.

Key words: Analgesia, Mice, Pain, *Salvia aethiopis*

***Corresponding Author: Eidi A,** Department of Biology, School of Basic Sciences, Tehran Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
E-mail: eidi@srbiau.ac.ir

ir