

## بررسی اثر ضد دردی عصاره آبی پیاز گیاه لاله واژگون در رت و مقایسه آن با مورفین

سید علی مردا<sup>۱</sup>، مریم شریفی<sup>۲</sup>، دکتر فتمی مقدم<sup>۳</sup>، نیلوفر نیسی<sup>۴</sup>،

تاریخ پذیرش: ۸۵/۱/۲۵

تاریخ دریافت: ۸۴/۷/۲۷

### چکیده

مقدمه: هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات ضد درد عصاره آبی پیاز گیاه لاله واژگون در رت و مقایسه آن با مورفین است.

مواد و روش‌ها: عصاره آبی پیاز گیاه به روش پرکولاسیون تهیه گردید. برای ارزیابی اثرات ضد دردی پیاز این گیاه از روش آزمون درد حاد (Tail- Flick) استفاده شد. تعداد ۴۰ رت نر از نژاد wistar با وزن تقریبی ۲۵۰-۳۰۰ گرم انتخاب، و به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند. گروه‌ها عبارت بودند از: A, B, و C که به ترتیب دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ از عصاره مذکور را به صورت خوراکی دریافت نمودند، و گروه D که مورفین را با دوز ۲ mg/kg به صورت زیر جلدی (S.c) دریافت نمودند.

یافته‌های پژوهش: آستانه درد در گروه‌های A و B تغییر قابل ملاحظه‌ای نداشت در حالی که در گروه C که عصاره را با دوز ۲۰۰ mg/kg دریافت نمودند، میزان درد به طور معنی‌داری کاهش یافت ( $p < 0.05$ ). همچنین تفاوت معنی‌داری بین گروه C و D از نظر کاهش درد وجود نداشت.

بحث و نتیجه‌گیری: در مطالعه حاضر مشخص گردید که عصاره آبی پیاز گیاه لاله واژگون دارای اثر ضد دردی می‌باشد. تصور می‌شود وجود اثر ضد دردی در این گیاه مربوط به حضور آلکالوئیدهای impericine و forticine باشد.

### واژه‌های کلیدی: لاله واژگون، اثرات ضد درد، Tail-Flick

۱- دانشجوی دوره دکترای تخصصی فیزیولوژی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور

۲- دانشجوی شیمی دانشگاه شهید چمران اهواز

۳- استادیار و مدیر گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی

۴- کارشناس آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده پزشکی

## مقدمه

آتروپین، مرفین و کوکائین از گیاهانی که به عنوان ضد درد استفاده می‌شده‌اند، به دست آمده است (۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴). در همین راستا پژوهش حاضر به منظور اثبات خاصیت ضد دردی گیاه لاله واژگون که در گذشته برای درمان ناراحتی‌های متعددی از جمله دردهای قاعدگی (۳) درد دندان و گلو، تسکن دردهای روماتیستی و عضلانی به کار می‌رفته است انجام گردیده است (۴).

## مواد و روش‌ها

روش تهیه عصاره: در اواخر فروردین ماه در منطقه عمومی سادات امامزاده علی (ع)، در دامنه کوه ساورز (ساورس) از توابع استان کیهکیلیویه و بویراحمد اقدام به جمع‌آوری و بیرون آوردن پیازهای گیاه لاله واژگون گردید که بطور متوسط در عمق ۳۰-۱۰ سانتی متری از سطح زمین قرار دارند. بعد از جمع‌آوری پیازها، گل و لای آنها جدا شده و بوسیله آب شستشو داده شد. بعد از شستن مطابق با روش سنتی پیازها به ریسمان کشیده شده و به دیوار آویخته شد تا خشک شوند. پیاز گیاه حاوی مقدار زیادی نشاسته است و آب را دیر از دست می‌دهد، به همین دلیل عمل خشک کردن به کندی صورت می‌گیرد و چنانچه پیازها در سایه قرار داده شوند تا چندین ماه خشک نمی‌شوند. برای تسریع در عمل خشک شدن آنها را به قطعات کوچک‌تر تقسیم نموده و در زیر آفتاب خشک کرده، سپس با آسیاب پودر گردید.

سپس به منظور تهیه عصاره میزان ۱۰۰ گرم از پودر تهیه شده در یک ارلن مایر ۵۰۰ سی سی با ۳۰۰ سی سی آب مقطر مخلوط گردید بعد وارد دستگاه پروکولاتور گردید. سرعت خروج عصاره از گیاه طوری تنظیم شد تا در هر ثانیه دو قطره خارج

لاله واژگون (*Fritillaria imperialis*) گیاهی است از خانواده سوسن (*Liliaceae*) و شامل ۱۰۰ گونه می‌باشد که غالباً در نیمکره شمالی می‌روید (۱). چند نوع از آن برای کشورهای ایران، قبرس و جنوب ترکیه بومی هستند (۲). در کشور چین از پیاز این گیاه به عنوان عامل ضد سرفه و اکسپکتورانت استفاده می‌نمایند (۳). پیاز خام این گیاه از دیرباز به عنوان یک داروی مهم در طب سنتی چین کاربرد داشته است (۴).

همچنین گزارش شده که این گیاه از تجمع پلاکت‌ها جلوگیری می‌نماید (۵). از پیاز این گیاه به طور سنتی در درمان انواع مختلفی از بیماری‌ها مثل آسم، سرفه، برونشیت و درد گلو استفاده می‌کردند (۶، ۷). و از آنجائی که داروهای ضد درد موجود هنوز طیف وسیعی از اثرات ناخواسته را در بر دارند، گاهی اوقات به نسل‌های بعدی هم منتقل می‌شود. جستجو برای یافتن ترکیبات جدید ضد درد از دهه ۱۹۶۰ در دنیا شروع شده است. هم اکنون بطور عمده دو دسته اصلی از مواد ضد درد یعنی اپیوئیدها و داروهای ضد التهاب غیراستروئیدی (شبه آسپرین‌ها) مورد استفاده قرار می‌گیرند که با وجود کاربرد فراوان، آثار نامطلوب آنها نیز فراوان است (۸). به عنوان مثال شبه آسپرین‌ها، آسیب‌هایی را به دستگاه گوارش، کلیه‌ها و سیستم اعصاب مرکزی وارد می‌سازند و در برخی بیماران نیز مؤثر نیستند. در مورد داروهای اپیوئیدی نیز مشکلاتی مانند مقاومت به دارو، وابستگی، سرخوشی و سوء استفاده وجود دارد (۲). 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 آسپرین،

جلوگیری از آیب بافتی محرک قطع می‌شد. حیوان به صورت افقی داخل محفظه مخصوص نگهداری حیوان (Restrainer) 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 treatment 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، ۳۰ دقیقه پس از تزریق یک سری سه تایی دیگر آزمون انجام شد و میانگین آن با عنوان زمان تأخیر پس از دارو ثبت گردید (Post-treatment Latency). (Tail- Flick Latency) زمان تأخیر در برداشت دم را گویند).

#### داروها

داروی مورفین سولفات از شرکت دارویی دارو پخش تهیه گردید.

#### ارزیابی آماری

برای مقایسه تأثیر دوزهای مختلف عصاره بر کاهش میزان درد از آزمون ANOVA یک طرفه و آزمون Tukey استفاده شد. جهت آنالیز نتایج به دست آمده از آزمون Tail-Flick (زمان تأخیر قبل از دارو، زمان تأخیر پس از دارو) برای هر گروه از تست آماری t-test زوج مقایسه شد. تفاوت بین میانگین‌ها در سطح  $P < 0.05$  از نظر آماری معنی‌دار (significant) در نظر گرفته شد. خطای معیار در تمامی آزمایشات به صورت خط عمودی (Vertical bar) در نمودار آورده شده است.

#### نتایج

نتایج حاصل از آزمون Tail-Flick نشان داد که تجویز دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ mg/kg در گروه A و B بصورت خوراکی تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر زمان تأخیر ندارند و هیچ گونه اثر بی‌دردی در این

شود. عصاره تهیه به وسیله قیف بوخنر و با استفاده از کاغذ صافی صاف شد، بعد از صاف کردن برای تغلیظ و تبخیر آن به دستگاه تقطیر در خلاء منتقل شد و در درجه حرارت ۶۰-۵۰ درجه عمل تغلیظ انجام گرفت. عمل تغلیظ تا زمانی که عصاره حالت عسلی به خود گرفت ادامه یافت (۵). نسبت استخراج عصاره از پودر پیاز لاله واژگون ۱۶ درصد بود.

#### حیوانات

موش صحرایی نر از نژاد Wistar با محدوده وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تهیه گردید. حیوانات در قفس‌های شفاف از جنس Plexiglass در گروه‌های ۴ تایی در دمای ۲۴-۲۰ درجه سانتیگراد و سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری می‌شدند و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. در تحقیق حاضر کلیه موازین اخلاقی مربوط به کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد.

#### آزمون سنجش درد

برای بررسی آثار ضد درد عصاره از دوزهای ۵۰-۱۰۰-۲۰۰ mg/kg بصورت خوراکی جهت تست Tail-Flick استفاده شد. جهت مقایسه اثر ضد دردی این عصاره با مورفین از دوز ۲mg/kg مورفین به صورت تزریق زیرجلدی (S.C) استفاده شد (۱۵).

#### 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 Smith انجام شد (۱۶) و شدت نور مورد استفاده برابر ۷ بود و از زمان ۱۰ ثانیه به عنوان قطع زمانی نوردی (cutoff time) استفاده شد. یعنی چنانچه حیوان تا مدت ۱۰ ثانیه پس از شروع تابش نور سوزان، دم خود را نمی‌کشید به منظور

آزمایش از خود بروز نمی‌دهند (جدول ۱). در حالی که گروه C که عصاره را با دوز ۲۰۰ mg/kg دریافت نمودند، میانگین زمان تأخیر (Latency) بطور معنی‌داری افزایش یافت ( $P < 0.05$ ) که نمایانگر کاهش آستانه درد و تأثیر قابل ملاحظه در کاهش درد است. همچنین در مقایسه بین دو گروه C و D تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۱).

جدول ۱. مقایسه میانگین زمان تأخیر (ثانیه) در برداشتن دم (Tail-Flick-Latency) قبل و بعد از دریافت عصاره و یا دارو (الف): در گروه‌های A و B عصاره تغییری در آستانه درد ایجاد نکرد در حالی که در گروه C که عصاره را با دوز ۲۰۰ mg/kg دریافت نموده بودند بطور معنی‌داری میزان درد کاهش یافت ( $P < 0.05$ )، ب: تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های C و D وجود نداشت.

گروه‌ها	میانگین زمان تأخیر (ثانیه) در برداشتن دم (Tail-Flick-Latency) قبل از دریافت	میانگین زمان تأخیر (ثانیه) در برداشتن دم-Tail (Flick-Latency) بعد از درصافت عصاره یا دارو
A (۵۰ mg/kg عصاره پیاز لاله واژگون)	5.38±0.33 S	5.79±0.18 S
B (۱۰۰ mg/kg عصاره پیاز لاله واژگون)	5.38±0.31 S	5.98±0.44 S
C (۲۰۰ mg/kg عصاره پیاز لاله واژگون)	5.38±19 S	7.65±0.11 S
D (۲ mg/kg مورفین)	5.38±0.27 S	7.22±0.19 S

### بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر برای اولین بار مشخص گردید که عصاره آبی پیاز لاله واژگون (۲۰۰ mg/kg) درارای اثر ضد دردی می‌باشد. همچنین با اثر ضد دردی ایجاد شده توسط دوز ۲ mg/kg مورفین تفاوت معنی‌داری نداشت. به علت فقدان هرگونه مطالعه‌ای راجع به تأثیر ضد دردی عصاره آبی پیاز لاله واژگون در موش صحرایی فقط به حدس و گمان‌هایی که می‌توانند مکانیزم احتمالی تأثیر ایجاد شده را توجیه نمایند پرداخته می‌شود.

همان‌طوری که می‌دانیم شایع‌ترین داروهای ضد درد موجود شامل (۱) داروهای ضد درد اپیوئیدی مثل مورفین و (۲) داروهای ضد التهابی غیراستروئیدی مثل آسپرین می‌باشد. مواد اپیوئیدی اثر خود را از طریق مهار انتخابی آزاد سازی واسطه‌های عصبی، یعنی تعدیل پیش سیناپسی انتقال اعمال می‌نمایند (۱۷) و آزادسازی تعدادی از واسطه‌های عصبی از جمله استیل

کولین نور اپی‌نفرین، دوپامین، سروتونین و ماده P می‌گردید.

تحقیقات انجام شده بر روی گیاه لاله واژگون وجود دو آلکالوئید استروئیدی به نام‌های Impericine و Forticine در این گیاه را نشان می‌دهند که دارای فعالیت آنتی‌کولینرژیک می‌باشند (۲۰، ۱۸). حال به توجه به اینکه مکانیزم داروهای ضد درد اپیوئیدی از طریق مهار ره‌های نور و ترانسمیترها می‌باشد و مقایسه آن با مطالعه فوق (۲۰، ۱۸) که تأثیر مهاری با آنتاگونیستی آلکالوئیدهای موجود در گیاه را بر استیل کولین نشان می‌دهد شایر بتوان نتیجه گرفت که مواد مؤثره موجود در عصاره گیاه مذکور نیز تخصصی عمل نکرده یعنی مانند اپیوئیدها علاوه بر مهار ره‌های استیل کولین موجب مهار ره‌های میانجی‌های درد مثل ماده P در سطح نخاع گردد و به این ترتیب از انتقال درد جلوگیری نموده و اثر ضد دردی‌اش را اعمال نماید. البته توضیحات فوق

آبی پیاز لاله واژگون در مهار درد می‌توان نتیجه گرفت که مکانیزم احتمالی تأثیر آن تا حد زیادی مشابه اپیوئیدها باشد.

دسته دوم داروهای ضد درد، داروهای ضد التهاب غیراستروئیدی می‌باشد که مکانیزم اثر آنها از طریق مهار نمودن مکانیزم سیکلواکسیژنا (COX) می‌باشد و بدین ترتیب از تولید مواد محرک درد مثل پروستاگلندین‌ها که محصول این آنزیم می‌باشند جلوگیری می‌شود (۲۳). در این راستا می‌توان به دردهای قاعدگی اشاره کرد که منشأ آن‌ها را پروستاگلندین‌ها می‌دانند و بطور موفقیت‌آمیزی توسط داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی مفنایمیک اسید درمان می‌شود. همانطوری که در مقدمه مقاله ذکر شد از این گیاه به طور سنتی در درمان دردهای قاعدگی نیز استفاده می‌کنند (۳). بنابراین این امکان وجود دارد که یکی از مکانیزم احتمالی مواد موثره این گیاه همانند داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی از طریق مهار آنزیم سیکلواکسیژنا باشد.

در پایان با توجه به اینکه اثر ضد دردی عصاره آبی پیاز گیاه لاله واژگون در مطالعه حاضر مشخص گردید، پیشنهاد می‌شود جهت پی بردن به مکانیزم آن، تأثیر آن بر سایر روش‌های ایجاد درد تجربی مثل تست فرمالین و ... نیز بررسی گردد.

با توجه به این مطلب می‌باشد که Tail-Flick یکی رفلکس‌های نخاعی می‌باشد (۲۱). که توسط ساختمان‌های فوق نخاعی که فعالیت نورون‌های بینابینی شاخ خلفی نخاع را تعدیل می‌نمایند، نیز تنظیم می‌گردد (۲۲). زیرا همانطوری که در این مطالعه مشاهده گردید میانگین زمان تأخیر در کشیدن دم در مقابل اشعه سوزاننده Tail-Flick در گروه دریافت‌کننده عصاره بیشتر از گروهی بود که عصاره دریافت نکرده بودند و نتیجتاً یکی از سطوح عصبی محل اثر عصاره می‌تواند نخاع باشد. نشان داد شد که استیل کولین و آگونیست‌های کولینرژیک از بی‌دردی ایجاد شده توسط تحریک الکتریکی جلوگیری می‌نمایند (۶). در مطالعات دیگری نیز مشخص شده که این گیاه از فعالیت آنتی کولینرژیک برخوردار است (۲۰، ۱۸). از مقایسه نتایج مربوط به تحقیقات مذکور به طور منطقی می‌توان نتیجه گرفت که یکی از مکانیزم‌های تأثیر عصاره آبی پیاز لاله واژگون از طریق مهار سیستم عصبی کولینرژیک باشد.

از طرفی همانطوری که در مقدمه اشاره شد به طور سنتی از این گیاه در کشور چین به عنوان ضد سرفه استفاده می‌کردند (۹) و از دسته داروهای ضد سرفه شایع فعلی می‌توان دکسترومتورفان‌پی را نام برد که مشتق کدئین بوده و به عنوان یک داروی اپیوئید متوسط محسوب می‌شود. حال با مقایسه مطالب فوق و همچنین اثرات مشاهده شده عصاره

## منابع

1. Tsukamoto Y, The Grand dictionary of horticulture. Shogakukan, Tokyo 1989; 4 : 271
2. Ori K, Mimaki Y, Sashida Y, Njkaido T, et al. persicanidine A; a novel cerveratrum alkaloid from the bulbs of Fritillaria persica. Chemistry Letter, 1992; 00: 163-166
3. Kaneko K, Katsuhara T, Kitamura Y, et al. New steroidal alkaloids from the Chinese herb drug "Bei-mu". Chem Pharm Bull 1988; 36: 4700-4705

4. Kitajima J, Noda N, Ida Y, Miyahara K, et al. Steroidal alkaloids of fresh bulbs of fritillaria thunbergi and of crude drug "bai-mo" prepared therefrom. *Heterocycles* 1981; 15: 791-796
5. Sook Y C H, Hook K,J, Ok K, et al. *Saengak Hakhoechi* 1986; 17, 161. (C.A.105, 222802)
6. Bailey L H. *Manual of cultivated plants*. Mac Millan Company, New York 1966; pp. 218-219.
7. Perry L M, *Medicinal plants of east and south east Asia*. MIT Press, Cambridge 1980; MA pp. 236-237
8. Elisabetsky E, Amador TA, et al. Analgesic activity of psychotria colorata (Wild, EXR. A and S) Muell, *Areg Alkaloids, J Ethnopharmacol* 1995; 48: 77-83
9. Sung Taekoo Yong II Park, Kyu Sang Lim, et al. Acupuncture analgesia in a new reat model of ankle sprain pain. *Pain J* 2002; 99:423-431
10. D' Amour F E Smith D L.A method for determination loss of pain sensation. *J pharmacol. EXP Ther* 1941; 74-79
11. Alfered Goodman Gilman. *The pharmacological lasis of therapeutics*. 10<sup>th</sup> ed Opioid Analgesics and Antagonists 2000
12. Atta-ur- Rahman Choudhary M I, Farooq A, et al. New steroidal alkalodis from fritillaria impreia;is and their cholinesterase inhibiting activities. *Chem Pharm Bull* 2002; 50(8): 1013-1016
13. Atta-ur- Rahman, Choudhary M.I., Farooq A, et al. Structure- activity relationships of imperialine derivatives and their anticholinergic activity. *Planta Medica* 1998; 64; 172-174
14. Atta-ur- Rahman, Farooq A. et al. A new anticholinergic steroidal alkaloid from Fritillaria imperialis of Turkish origin. *Planta Medical* 1994; 60: 377
15. Irwin S Houde RW, Bennett DR, et al. The effects of morphine, methadone and meperidine on some reflex responses of spinal animals to nociceptive stimulation. *J pharmacol Exp Ther* 1951; 101: 132-143
16. Dennewan PJ, Kiritsy-Roy JA, Morrow TJ, et al. Central delay of the laser- activated rat tail-flick reflex. *Pain* 1994; 58: 39-44
17. Katzung BG. *Basic and clinical pharmacology*. 9<sup>th</sup> ed 2004; chap 30

۱۸- دهپور، ار؛ موسوی زاده، ک. مبانی فارماکولوژی عوارض ناخواسته دارویی، رازی شماره ۱، سال ۱۳۶۹، ۱۰-۳۰.

۱۹- امین، غ. گیاهان دارویی سنتی ایران، معاونت پژوهشی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، جلد اول سال ۱۳۸۰، ص ۱۰۳-۱۰۴.

۲۰- میر حیدر، حسین. معارف گیاهی، جلد هفتم، انتشارات دفتر نشر فرهنگ اسلامی چاپ اول، تهران، سال ۱۳۷۳، صفحات ۲۷۸-۲۷۹.

- ۲۱- زرگری، علی. جلد ۴، انتشارات دانشگاه تهران، چاپ پنجم، ۱۳۷۱، صفحات ۴۱-۶۳۹.
- ۲۲- صمصام شریعت، ه. عصاره‌گیری مواد مؤثره گیاهان دارویی و روش شناسایی و ارزشیابی آنها، انتشارات مانی، اصفهان ۱۳۷۱، صفحات ۱۷-۱۳.
- ۲۳- حاجی‌زاده، سهراب؛ معتمدی، فرشته؛ سمنانیان، سعید. مهار بی‌دردی حاصل از تحریک الکتریکی بوسیله ترکیبات کولینرژیک، مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی، سال سوم شماره ۱، بهار و تابستان ۱۳۷۸.

***Evaluation of analgesic effect of Fritillaria Imperialis aqueous extract  
in rats and comparison of its effect with morphine***

---

***Abstract***

***Introduction:*** the aim of the present study was to investigate the analgesic effect of Fritillaria imperialis bulbs and compare its effect with morphine.

***Materials & Methods:*** Forty male albino wistar (250-300g) were used. Animals were randomly assigned to four groups (n=10) as follows: Group (A, B and C) were treated with the aqueous Extract of Fritillaria Imperialis bulbs (AEFb at doses of 50 , 100, 1nd 200 mg/kg, p, o) respectively. And group D was administered morphine (2 mg/kg, S.c). For evaluation of the possible analgesic effect of this plant the acute (Tail-Flick) pain model were used in male rats.

***Results:*** Administration of 50 and 100 mg/kg of AEFb in group A and B did not show any effect in the Tail- Flick test. However, AEFb (200 mg/kg) in group C reduced pain significantly ( $P<0.05$ ) and also there is not any significant difference between C and D group..

***Conclusion:*** This study demonstrated that the AEFb has analgesic effect. It seems that the analgesic effect of AEFb was related to the presence of some alkaloids such as: impericine and forticine.

***Key words:*** Fritillaria mperialis, Tail- flick, Analegesic effect