Archive of SID

کومش- جلد ۱۷، شماره ۲ (پیاپی ۵۸)، زمستان ۱۳۹٤

...ی اثرات ضد ... گیاه عدس الملک بر درد حاد، مزمن و ... سوری سفید نر

حمیدرضا ثامنی[۱](Ph.D)، مجید جدیدی[۲](Ph.D)، سجاد صادقی [۳](M.D Student)، شیما شریفی[۳](M.D Student)، عباسعلی طاهریان [۴*](M.D)

۱- مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی سیستم عصبی و گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۲- مرکز تحقیقات فیزیولوژی و گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۳ –کمیته تحقیقات دانشجویان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۴- آزمایشگاه درد، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

چکیده

...قدمه و هدف: ... مطالعات نشان داده‌اند که عصاره ... گیاه عدس الملک اثرات ضد ... ضد دیابت، کاهنده فشار خون بالا، کاهنده پتاسیم خون، کم... خون، اثر ادرارآور و اثرات ضد ... می‌باشد. هدف این مطالعه ... اثرات ضد دردی حاد، مزمن و احشایی عصاره ... گیاه عدس الملک بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی از ۱۶۰ موش ... (آلبینو) در محدوده وزنی ۲۵ تا ۳۰ گرم در گروه‌های ۸ تایی استفاده شد. عصاره ... گیاه عدس الملک با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش و به شکل ۳۰ دقیقه قبل از ارزیابی درد به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد. حاد و مزمن در آزمون‌های ... درد Hot plate، Tail flick و Formalin ... احشایی در مدل Writhing ... قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج مطالعه حاضر دال بر اثرات ... عصاره هیدروالکلی دانه گیاه عدس الملک ... با گروه کنترل داشت (P<۰/۰۵). این اثرات ... اثرات بهتری از خود نشان داد (P<۰/۰۱).

نتیجه‌گیری: یافته‌های ... نشان داد که عصاره ... گیاه عدس الملک دارای اثرات ... درد در ... آزمایشگاهی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: عدس الملک، درد حاد، درد ... احشایی ... سوری

مقدمه

در طب مدرن امروزی اغلب داروهای مورد استفاده برای تسکین درد و کاهش التهاب یا نارکوتیک هستند مانند اپیوئیدها و یا غیر نارکوتیک هستند مانند سالیسیلات‌ها و کورتیکواستروئیدهایی مانند هیدروکورتیزون که همه این داروها اثرات سمی و جانبی شناخته شده‌ای دارند [۳-۱].

مهم‌ترین مشکل استفاده در داروهای اپیوئیدی به ویژه مرفین علی‌رغم کارآیی بالا در تسکین درد، ایجاد پدیده تحمل (اعتیاد) در اثر استفاده مکرر این داروها است [۴]. در نتیجه، عوارض جانبی داروهای صناعی باعث شده که جهت دستیابی به داروهای ضد درد جدید با کاربری بالا و آثار محدودکننده کم‌تر، گیاهان دارویی و مواد طبیعی مورد توجه بیش‌تری قرار

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۳-۳۳۵۴۲۱۸

Email: Taherian 99@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۵/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۷/۱۴

www.SID.ir

Archive of SID

گیرند [۵]. گیاه عدس‌الملک از جمله گیاهان دارویی است که دارای کاربری‌های مختلفی در طب سنتی بوده و در طب امروزی نیز اثرات مختلفی از آن گزارش شده است.

گیاه عدس‌الملک یا *securigera securidaca (L.)* متعلق به خانواده Papiliunaceae (Leguminosae) گیاهی دارویی است که کاربردهای گوناگونی دارد. محل رویش آن در اروپا، استرالیا، غرب آسیا و ایران می‌باشد که به صورت خودرو رشد می‌کند. در طب سنتی از دانه‌های آن استفاده می‌شود. این گیاه در فارسی تخم شیرازی و گنده تلخ نامیده می‌شود. از آزمایش‌های فیتوشیمیایی انجام شده بر روی دانه و پوسته گیاه مشخص شده که ماده‌ی مؤثره‌ی گیاه در دانه‌ی آن وجود دارد [۹-۶]. مهم‌ترین ترکیباتی که در دانه‌ی گیاه گزارش شده‌اند شامل ترکیباتی از گروه ساپونین‌های تری‌ترپنی، کاردنولیدها، فلاونوئیدها، کومارین‌ها و استرول‌ها می‌باشند [۱۰]. مطالعات شیمی گیاهی (فیتوکمیکال) بر روی دانه گیاه عدس‌الملک وجود چندین جزء فعال شامل: استروئیدال‌ها، تری‌ترپنوئیدهای نوع ساپونین، کاردنولیدها، فلاونوئیدها و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی را در آن به اثبات رسانده‌اند [۱۱].

برخی از موارد استفاده این گیاه در طب سنتی ایران شامل کاهش فشار خون، کاهش قند خون، درمان دیابت قندی (دیابت ملیتوس) و کاهش چربی خون بالا بوده است [۱۲]. به علت وجود ترکیبات ضد دردی و ضد التهابی در برخی از گونه‌های خانواده‌ی پاپیلیوناسه، امکان وجود این ترکیبات در این گیاه نیز می‌باشد [۱۳]. هم‌چنین، عصاره‌ی آبی و اتانولی عدس‌الملک حاوی آلکالوئید، تانن و غنی از فلاونوئید است که دارای خواص ضد دردی و ضد التهابی می‌باشند [۱۶-۱۴]. در طب مدرن امروزی نیز مطالعات نشان داده‌اند که عصاره دانه گیاه عدس‌الملک دارای اثرات درمانی مختلفی از جمله: اثرات ضد صرعی، ضد دیابتی، کاهنده فشار خون بالا، اثر مداخله‌ای بر حرکات منظم بدن مثل فعالیت قلب، اثر کاهنده پتاسیم خون، اثر کاهش‌دهندگی قند و چربی‌های خون، اثر دیورتیک، اثرات محافظتی و ضد ترشحی مخاط معدی، اثرات کاهندگی فاکتورهای اکسیداتیو مثل مالون دی آلدئید، بهبود عمل‌کرد وابسته به اندوتلیوم عروق و اثرات ضد تشنجی می‌باشد [۲۱-۱۷]. هرچند مکانیسم‌های واضحی برای توجیه اثرات ضد دردی و ضد التهابی آن‌ها بیان نشده است اما، ذکر شده که فلاونوئیدها که یکی از مهارکننده‌های آنزیم سنتزکننده‌ی نیتریک اکساید به شمار می‌روند و مانع تولید NO می‌شوند در زمان تزریق فرمالین افزایش می‌یابند، بنابراین ممکن است باعث بروز فعالیت ضد دردی باشند [۲۲]. سایر مطالعات نشان می‌دهند که فلاونوئیدها با مهار فعالیت گیرنده‌های N- متیل- D- آسپارتات سبب کاهش کلسیم داخل سلولی می‌شوند و به دنبال آن فعالیت آنزیم سنتزکننده‌ی نیتریک اکساید و فسفولیپاز A2 وابسته به کلسیم کاهش می‌یابد و در نتیجه با کاهش NO و پروستاگلاندین‌ها اثرات ضد دردی خود را نشان می‌دهند [۲۴،۲۳]. در مطالعه‌ای که توسط دکتر شهیدی و همکاران انجام شده در مورد اثرات ضد دردی نوعی جوشانده دانه این گیاه بر روی درد حاد در آزمون Tail flick وWrithing و نقش گیرنده‌های احتمالی نیز بررسی شده است [۲۵].

با توجه به این‌که در مورد اثرات ضد دردی گیاه عدس‌الملک مطالعات اندکی انجام شده است بر آن شدیم تا اثرات ضد دردی عصاره هیدروالکلی دانه گیاه عدس الملک را بر روی آزمون‌های اختصاصی سنجش درد در حیوانات آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دهیم. به‌نظر می‌رسد با انجام آزمایشات تکمیلی بتوان هم اثر ضد دردی و هم نقش گیرنده‌های موثر در این اثر را بهتر شناسایی کرد.

مواد و روش‌ها

حیوانات در این مطالعه از ۱۶۰ سر موش سوری نژاد آلبینو Albino با وزن ۲۵ تا ۳۰ گرم استفاده شد. این موش‌ها از بین جمعیت کل در دسترس در مرکز تکثیر و نگه‌داری حیوانات آزمایشگاهی مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان انتخاب شده و به‌طور تصادفی در گروه‌های ۸ تایی قرار گرفتند. حیوانات در یک اطاق کنترل

www.SID.ir

Archive of SID

شده از نظر حرارت و رطوبت در یک سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفته، آب و غذا به مقدار کافی در اختیار آن‌ها قرار داشت و حداقل یک ساعت قبل از انجام آزمون‌ها به محل انجام آزمایشات منتقل می‌شدند. درجه حرارت آزمایشگاه در طول آزمایشات در حدود ۲۲ درجه سانتی‌گراد و زمان انجام آزمون‌ها از ساعت ۹ صبح تا ۲ بعداز ظهر بود.

تهیه عصاره‌گیری دانه گیاه و روش سوکسله ۵۰ گرم دانه گیاه از یکی از عطاری‌های معروف شهر تهیه و پس از تایید مرکز آموزشی علمی کاربردی جهاد کشاورزی استان سمنان، عصاره‌گیری به روش سوکسله انجام گرفت.

برای تهیه عصاره هیدروالکلی دانه گیاه عدس‌الملک، ابتدا ۵۰ گرم دانه گیاه عدس‌الملک مورد تائید مرکز، آسیاب و به صورت پودر آماده و سپس حلال مورد نظر یعنی الکل اتیلیک (اتانول) ۷۰٪ و آب ۳۰٪ اضافه و درجه هیتر بر روی ۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. حلال یعنی الکل به‌صورت بخار در آمده و به‌طور اتوماتیک تخلیه می‌شود. این جریان تا عمل استخراج کامل مواد موثره از پودر ادامه می‌یابد. عصاره به دست آمده توسط دستگاه روتاری به عصاره خالص تبدیل می‌شود.

عصاره غلیظ به‌دست آمده در دستگاه بن‌ماری با حرارت حدود ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا آب آن نیز کاملاً تبخیر شود. محصول خشک به‌دست آمده وزن و در محل مناسبی (یخچال) نگه‌داری و بر اساس دوزهای مورد نیاز محلول خشک در نرمال سالین حل و مورد استفاده قرار گرفت.

گروه‌های آزمایشی برای بررسی درد در هر آزمونی گروه‌های زیر طراحی و آزمایشات انجام شدند:

۱- گروه کنترل (n=۸)

۲- گروه وهیکل یا سالین (n=۸)

۳- گروه‌های دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی دانه گیاه عدس‌الملک با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش (n=۲۴) [۲۶،۲۷].

آزمون‌های سنجش درد

Hot Plate (HP) . در این آزمون درد حاد ناشی از حرارت ارزیابی می‌شود. در این تحقیق دستگاه مورد استفاده ساخت شرکتIITC Life Sciences ، مدل ۳۹ مورد استفاده قرار گرفت. دستگاه از طریق مقاومت الکتریکی داغ شده و مجهز به زمان‌سنج و ترموستات است. در این مطالعه درجه حرارت ۵۲/۵±۰/۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. هنگام قرار دادن حیوان روی صفحه داغ زمان‌سنج را فعال می‌کنیم. زمانی که حیوان شروع به لیسیدن پاهای جلویی خود می‌کند یا پاهای عقبی را بالا می‌برد، زمان‌سنج را متوقف و زمان مورد نظر به‌عنوان زمان پاسخ به درد (Latency) در نظر گرفته می‌شود. برای جلوگیری از صدمه به حیوان زمان ختم آزمایش (Cutoff) ۴۵ ثانیه در نظر گرفته می‌شود [۲۸].

Tail Flick (TF). این آزمون نیز یکی از روش‌های استاندارد بررسی درد حاد در حیوانات آزمایشگاهی است. در این تحقیق دستگاه ساخت شرکت (Ugo Basile)، مدل ۳۷۳۶۰ از کشور ایتالیا مورد استفاده قرار گرفت. حیوان را به‌وسیله حوله و با دست طوری روی دستگاه مقید می‌کنیم که کم‌ترین استرس به آن وارد شده و دم حیوان به آزادی قابل حرکت باشد. شدت تابش در این دستگاه بین ۰ تا ۹۹ متغیر و قابل کنترل می‌باشد. در این مطالعه شدت ۵۰ و برای Cut off (جلوگیری از آسیب به دم حیوان) ۱۳ ثانیه برای موش سوری انتخاب شد. پس از قرار گرفتن دم حیوان در مسیر تابش اشعه، با فشار تکمه خاصی یک دسته پرتو به نقطه خاصی از دم موش‌ها تابانده می‌شود و به صورت خودکار دستگاه زمان تابش اشعه به دم حیوان را ثبت می‌نماید. زمانی که حیوان در اثر سوزش، دم خود را تکان دهد، تابش اشعه خودکار قطع شده و این زمان که با حساسیت ۰/۱ ثانیه به ثبت می‌رسد، که به‌عنوان زمان پاسخ به درد (Latency) در نظر گرفته می‌شود [۲۹].

Formalin Test (FT) . در این آزمون بر خلاف دو آزمون قبلی، درد حاد و مزمن مورد سنجش قرار می‌گیرد. وسیله انجام آزمون، یک چهارپایه آلومینیومی است که روی

www.SID.ir

Archive of SID

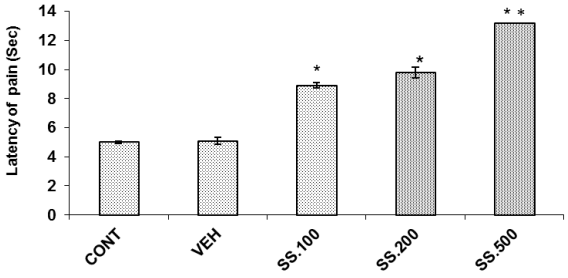
آن صفحه شیشه‌ای قرار گرفته است. روی صفحه شیشه‌ای، مکعبی از جنس پلکسی‌گلاس به ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر قرار می‌دهیم که حیوان جهت آزمون در این فضا قرار می‌گیرد. در فاصله‌ای از سطح شیشه و سطح افق، آینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه قرار گرفته که مشاهدات را آسان‌تر می‌کند. در روز انجام آزمایش، فرمالین با دوز ۲۵ میکرولیتر با غلظت ۳٪ به صورت زیر جلدی به کف پای راست عقبی موش تزریق می‌شود. کل زمان برحسب ثانیه که برای لیسیدن و گاز گرفتن پای تزریق شده صرف می‌شود، در دوره‌های زمانی ۵ دقیقه اول برای درد حاد و ۱۵ تا ۴۵ دقیقه بعد به‌عنوان شاخص درد مزمن، اندازه‌گیری می‌شود. بعد از ۵ دقیقه اول، در فاصله دقایق ۵ الی ۱۵، حیوان رفتار خاصی را از خود نشان نمی‌دهد. از دقیقه ۱۵ تا ۶۰، فاز دوم درد شروع می‌شود و حیوان دوباره به لیسیدن کف پای مربوطه می‌پردازد که حدود ۴۵ دقیقه طول می‌کشد [۳۰].

Writhing. در این آزمون با تزریق اسید استیک با غلظت (۱٪) و با دوز ۱ ml/kg به صورت داخل صفاقی باعث ایجاد درد احشایی می‌شود. این درد منجر به بروز واکنش‌های انقباضی و کشیدن اندام‌ها می‌شود. با تزریق عصاره ۳۰ دقیقه قبل از آزمون، زمان و تعداد این واکنش‌ها ثبت و با گروه کنترل مورد مقایسه قرار می‌گیرد [۳۱]. برای مشاهده رفتار حیوان می‌توان از دستگاه سنجش درد فرمالین هم استفاده نمود.

تجزیه و تحلیل داده‌ها نتایج به‌دست آمده به صورت Mean±SEM ارائه شدند. یافته‌ها در گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و تست تکمیلی توکی (Tukey) توسط نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح معنی‌داری P>۰/۰۵، در نظر گرفته شد.

نتایج

HP آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از تفاوت بین گروهها بود. آنالیز بعدی نشان داد که تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی دانه گیاه عدس‌الملک با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش بر درد حاد در مدل ارزیابی HP، ۳۰ دقیقه قبل از انجام این تست، در مقایسه با گروه کنترل، باعث افزایش معنی‌دار زمان پاسخ به درد می‌شود (P<۰/۰۵) (شکل ۱). بهترین اثر نیز با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش بود



(P<۰/۰۱).

شکل ۱. اثرات تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی دانه عدس الملک بر درد حاد در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل (نرمال سالین) در مدل ارزیابی HP. * (P< 0.05) در مقایسه با گروه‌های CONT و VEH و ** (P< 0.01) بیشترین اثر در مقایسه با گروه‌های CONT و VEH

CONT= Control
VEH = Vehicle (Normal Saline)
SS= Securigera securidaca L. seed

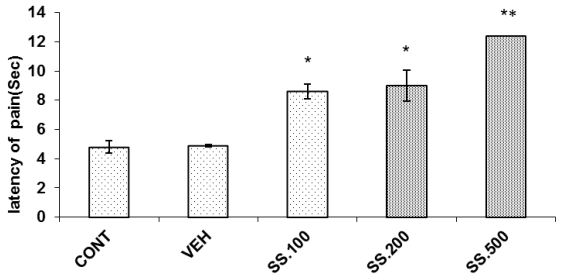
TF آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از تفاوت بین گروهها بود. آنالیز بعدی نشان داد که تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی دانه گیاه عدس‌الملک با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش بر درد حاد در مدل ارزیابی Tail Flick در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل باعث افزایش معنی‌دار زمان پاسخ به درد شده است (P<۰/۰۵) (شکل ۲). بهترین اثر عصاره با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش بود (P<۰/۰۱).

Formalin آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از تفاوت بین گروهها بود. آنالیز بعدی نشان داد که تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی دانه گیاه عدس‌الملک با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش بر درد حاد (شکل ۳) و درد مزمن (شکل ۴) در مدل ارزیابی

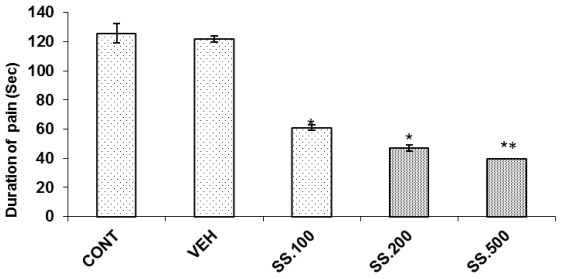
www.SID.ir

Archive of SID

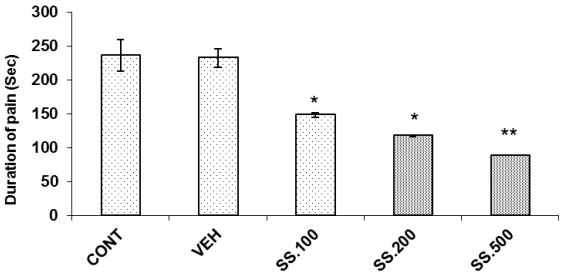
فرمالین ۳۰ دقیقه قبل از انجام تست فرمالین، در مقایسه با گروه کنترل زمان لیسیدن کف پایی را که فرمالین تزریق شده بود، به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد (P<۰/۰۵). ضمناً بهترین اثر با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش بود (P<۰/۰۱).



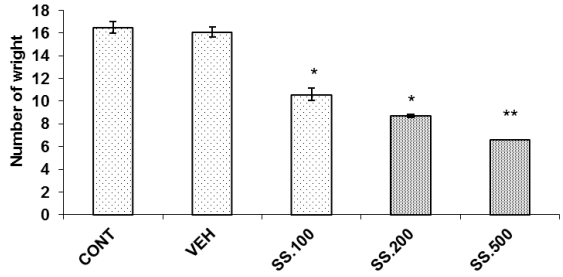
شکل ۲. اثرات تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی دانه عدس الملک بر درد حاد در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل (نرمال سالین) در مدل ارزیابی Tail Flick . * (P< 0.05) در مقایسه با گروه‌های CONT و VEH و ** (P< 0.01) بیشترین اثر در مقایسه با گروه‌های CONT و VEH . مخفف ها همان زیرنویس شکل ۱.



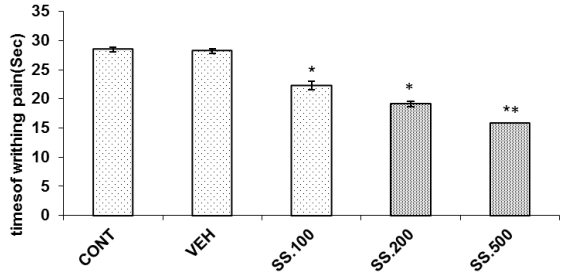
شکل ۳. اثرات تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی دانه عدس الملک در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل (نرمال سالین) در فاز حاد آزمون فرمالین. * (P< 0.05) در مقایسه با گروه‌های CONT و VEH و ** (P< 0.01) بیشترین اثر در مقایسه با گروه‌های CONT و VEH. مخفف ها همان زیرنویس شکل ۱.



شکل ۴. اثرات تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی دانه عدس الملک در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل (نرمال سالین) در فاز مزمن آزمون فرمالین



شکل ۵. اثرات تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی دانه عدس الملک بر تعداد رایتینگ در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل (نرمال سالین) در آزمون بررسی درد احشایی ناشی از تزریق اسید استیک. * (P< 0.05) در مقایسه با گروه‌های CONT و VEH و ** (P< 0.01) بیشترین اثر در مقایسه با گروه‌های CONT و VEH. مخفف ها همان زیرنویس شکل ۱.



شکل ۶. اثرات تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی دانه عدس الملک بر زمان رایتینگ در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل(نرمال سالین) در آزمون بررسی درد احشایی ناشی از تزریق اسید استیک. * (P< 0.05) در مقایسه با گروه‌های CONT و VEH و ** (P< 0.01) بیشترین اثر در مقایسه با گروه‌های CONT و VEH. مخفف ها همان زیرنویس شکل ۱.

www.SID.ir

Archive of SID

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج مطالعات ما نشان داد:

الف – عصاره هیدروالکلی دانه گیاه عدس‌الملک با هر سه دوز (۱۰۰ ، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان دارای اثرات ضد دردی در ۴ آزمون ارزیابی درد (HP، TF، Formalin و Writhing) در حیوانات آزمایشگاهی می‌باشد. ضمناً بالاترین دوز عصاره اثرات ضد دردی بهتری از خود بروز داد.

ب– در مدت ۷۲ ساعت پس از تزریق دوزهای سه گانه عصاره هیدروالکلی ریزوم عدس‌الملک (۱۰۰ ، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان) هیچ‌گونه مرگ و میری مشاهده نشد.

فعالیت ضد دردی عصاره با استفاده از دو روش ارزیابی درد حرارتی و شیمیایی در موش سوری مورد ارزیابی قرار گرفت. این آزمون‌ها جهت بررسی و مشخص کردن اثرات ضد دردی مرکزی و محیطی در حیوانات آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

آزمون‌های HP و TF برای ارزیابی درد حاد مورد استفاده قرار گرفته و نسبت به اثرات ضد دردی مرکزی حساس هستند [۳۴-۳۲]. در آزمون فرمالین با توجه به دو فازی بودن آن هر دو نوع درد حاد و مزمن مورد سنجش قرار می‌گیرند [۳۵]. در حالی‌که از تست رایتینگ ناشی از تزریق اسید استیک به منظور بررسی دردهای احشایی و مشخص کردن اثرات مرکزی و محیطی استفاده می‌شود [۳۶]. نتایج مطالعه ما دال بر این بود که استفاده سیستمیک از عصاره هیدروالکلی عدس‌الملک می‌تواند وابسته به دوز با افزایش زمان واکنش به حرارت در آزمون‌های HP و TF و کاهش پاسخ به درد در آزمون فرمالین و همچنین کاهش تعداد و زمان رایت‌های ایجاد شده در آزمون Writhing باعث تعدیل درد حاد، مزمن و احشایی شود. این نتایج همچنین نشان دادند که عصاره در محدوده بین ۱۰۰ تا ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان دارای اثرات ضد دردی است و در بالاترین دوز در مقایسه با گروه کنترل بیش‌ترین اثر را از خود نشان می‌دهد.

یافته‌های مطالعه ما با نتایج منتشر شده ضد دردی در یک مطالعات انجام شده که از عصاره گیاه عدس‌الملک استفاده شده همخوانی دارد [۲۲]. گرچه مطالعات متعددی در مورد اثرات مختلف عدس‌الملک منتشر شده اما تاکنون مطالبی در مورد بررسی اثرات ضد دردی آن در آزمون‌های ۴ گانه فوق منتشر نشده است.

از آن‌جایی که در HP درد حاد ناشی از حرارت مورد بررسی قرار می‌گیرد و دخالت انسانی در این آزمون کم‌تر است شاید بتوان گفت این آزمون در سنجش درد حاد از حساسیت بیش‌تری برخوردار است. نتایج مطالعات قبلی نشان داده است که در انتقال دردهای ناشی از حرارت به مرکز سیستم اوپیوئیدی نقش اساسی دارد [۳۷]. هم‌چنین مشخص شده که آزمون‌های درد حرارتی بیش‌تر به گیرنده‌های مو اوپیوئیدی حساس بوده ولی آزمون‌های غیر حرارتی به گیرنده‌های اوپیوئیدی کاپا حساس هستند [۳۸،۳۹].

آزمون HP که برای ارزیابی فعالیت ضد دردهای مرکزی مورد استفاده قرار می‌گیرد، مسئول فوق نخاعی مسیر درد بوده و یک مدل مرکزی انتخابی برای ضد دردهای مشتق از اوپیوئیدها می‌باشد [۴۰].

استفاده از عصاره هیدروالکلی عدس‌الملک منجر به بروز اثرات ضد دردی قوی در این آزمون شد. نتایج به دست آمده در آزمون TF که روش انتخابی قابل مقایسه برای اثر داروهای ضد دردی اوپیوئیدی است این اثرات ضد دردی مرکزی را حمایت می‌کند. در آزمون TF نیز درد حاد مورد بررسی قرار می‌گیرد. آزمون TF یک واکنش نخاعی است البته دیده شده این رفلکس بعد از قطع و یا بلوک ناشی از سرما در قسمت فوقانی نخاع باقی می‌ماند. اما مانند اغلب رفلکس‌ها در منطقه بالاتر از نخاع کنترل می‌شود. جزئیات مسیر نخاعی این رفلکس قابل دسترسی است. مشخص شده که شروع آن ناشی از تحریک در فیبرهای نوع C است. هر چند از رفلکس TF همواره به عنوان یک رفلکس نخاعی نام می‌برند که درد را منتقل می‌کند اما، ممکن است که همیشه هم نخاعی خالص نباشد. هر چند ممکن است رفلکس TF فقط نخاعی

www.SID.ir

Archive of SID

خالص نباشد اما بسیار پیچیده‌تر از آن است که فقط یک مرکز فوق نخاعی در آن دخالت داشته باشد. ممکن است برای مثال یک مدار نخاعی- پیازی- نخاعی واسطه انجام آن باشد [۴۱-۴۴].

آزمون غوطه‌وری دم در آب داغ که نوع دیگری از این آزمون است می‌تواند یک آزمون انتخابی برای آزمایش ترکیباتی باشد که از طریق گیرنده‌های اوپیوئیدی اثر خود را اعمال می‌کنند. همه عصاره‌ها و یا ترکیباتی که آستانه درد را با تاخیر در زمان پایه افزایش می‌دهند دلالت بر این دارند که ممکن است از طریق مکانیسم‌های ضد دردی مرکزی اثر خود را اعمال کنند. ضد دردهای مخدر از طریق مکانیسم‌های مرکزی و محیطی درد را کاهش می‌دهند در حالی که داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی فقط دردهای محیطی را کاهش می‌دهند [۲۱].

در آزمون Formalin بر خلاف دو آزمون TF و HP که فقط درد حاد ارزیابی می‌شد، درد حاد و مزمن مورد بررسی قرار می‌گیرد. آزمون فرمالین دو فاز جداگانه دارد: فاز ابتدایی نوروژنیک بوده و فاز دوم التهابی است [۲۴]. در فاز اول آزمون که بلافاصله پس از تزریق فرمالین مورد سنجش قرار می‌گیرد درد حاصله ناشی از اثر مستقیم فرمالین بر گیرنده‌های عصبی حس درد بوده که آن را درد حاد و یا عصبی (Neurogenic) می‌نامند. فاز دوم درد در آزمون فرمالین که ناشی از ایجاد صدمه بافتی در اثر تزریق فرمالین است به عنوان درد مزمن و یا التهابی (Inflammatory) مورد بررسی قرار می‌گیرد. در فاز دوم واسطه‌هایی مانند هیستامین، کینین سروتونین و پروستاگلاندین‌ها از سلول‌های بافت صدمه‌دیده آزاد می‌شوند. این واسطه‌ها حداقل ایجاد مسئول قسمتی از این التهاب می‌باشند که باعث تحریک گیرنده‌های درد و منجر به بروز درد می‌شوند. در این آزمون داروهای ضد درد موثر مرکزی مانند نارکوتیک‌ها هر دو فاز را کاهش می‌دهند در حالی‌که داروهای اثرکننده محیطی فقط بر فاز دوم اثر دارند [۴۵]. داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی مانند ایندومتاسین درد فاز دوم را کاهش می‌دهند ولی بر فاز اول بی‌تاثیر هستند. به‌نظر می‌رسد که در فاز اول ماده P و برادی کینین اثر داشته در حالی که در فاز دوم هیستامین، سروتونین، برادی کینین و پروستاگلاندین نقش دارند [۴۶،۲۴]. از آن‌جایی که دمای محیط هم در فاز دوم اثر دارد و دمای محیط بر دمای بافت صدمه دیده اثر گذاشته و کاهش دمای بافت می‌تواند باعث آرام‌تر شدن و توسعه کم‌تر فاز دوم شود بنابراین آزمون در مکانی با درجه حرارت معمولی انجام شد تا اثرات مثبت یا منفی کاذب ناشی از تاثیر دما در نتایج دیده نشود. از سویی دیگر هرگونه استرسی که در محیط آزمون برای حیوان ایجاد شود مانند نور زیاد، سر و صدا می‌تواند منجر به تغییر در نتایج آزمون شود، به همین علت آزمون در محیطی آرام انجام شد.

نتایج مرحله اول اساساً ناشی از تحریک مستقیم گیرنده‌های درد است در حالی‌که فاز دوم شامل یک دوره حساسی است که در طی آن پدیده التهابی رخ می‌دهد. منشاء مرکزی یا محیطی بودن این مرحله مورد بحث است [۴۷]. در برخی از موارد نتایج فاز دوم را مربوط به فرایندهای مرکزی ناشی از فعال نمودن نورون‌ها در فاز اول می‌دانند [۴۸].

نتایج مطالعه ما نشان داد که استفاده داخل صفاقی عصاره عدس‌الملک در هر دو فاز آزمون فرمالین زمان لیسیدن و یا گاز گرفتن پا توسط حیوان کاهش می‌یابد. در حقیقت این اثر نشان می‌دهد که عصاره دارای ترکیباتی است که به هر دو صورت مرکزی و محیطی بر روی درد اثر گذاشته و منجر به بروز اثرات ضد دردی می‌شود.

Writhing وابسته به اسید استیک در موش سوری به عنوان یک آزمون سنجش درد احشایی قابل استناد است [۴۹]. بر خلاف آزمون‌های قبلی که درد حاد و مزمن ارزیابی می‌شد، در این آزمون درد احشایی (انقباضات شکمی و کشش اندام‌ها) ناشی از تحریک پریتوئن به‌دنبال تزریق اسید استیک مورد بررسی قرار می‌گیرد. از آن‌جایی که انقباضات شکمی ایجاد شده بعد از تزریق داخل صفاقی اسید استیک ناشی از حساسیت گیرنده‌های ضد دردی به پروستاگلاندین‌ها می‌باشد، بنابراین ممکن است عصاره اثرات ضد دردی خود را احتمالاً به‌وسیله کاهش سنتز و یا عمل‌کرد پروستاگلاندین‌ها اعمال

www.SID.ir

Archive of SID

کند. استفاده داخل صفاقی اسید استیک منجر به آزادی پروستاگلاندین‌ها و واسطه‌های سیستم سمپاتومیمتیک مانند پروستاگلاندین E2α و F2α و افزایش سطح آن‌ها در مایع صفاقی حیواناتی می‌شود که در آن‌ها اسید استیک داخل صفاقی تزریق شده است [۵۰].

پاسخ‌های رایتینگ وابسته به اسید استیک، یک روش حساس به ارزیابی ضد دردهای عمل‌کننده محیطی می‌باشند. به‌نظر می‌رسد در این پاسخ‌ها، ماست سل‌های پریتوئنی [۵۱]. کانال‌های یونی حساس به اسید [۵۲]، و مسیرهای پروستاگلاندینی واسطه‌گری می‌کنند [۵۳،۵۴]. با توجه به بروز اثرات ضد دردی عصاره عدس‌الملک در این آزمون، به‌نظر می‌رسد عصاره دارای ترکیباتی است که شبیه ضد دردهای محیطی عمل کرده و اثرات ضد دردی بسیار خوبی از خود بروز داده است.

آزمون‌های HP و TF برای ارزیابی درد حاد مورد استفاده قرار گرفته و نسبت به اثرات ضد دردی مرکزی حساس هستند ۳۴-۳۲. در آزمون فرمالین با توجه به دو فازی بودن آن هر دو نوع درد حاد و مزمن مورد سنجش قرار می‌گیرند [۳۵]. در حالی‌که از تست رایتینگ ناشی از تزریق اسید استیک به منظور بررسی دردهای احشایی و مشخص کردن اثرات مرکزی و محیطی استفاده می‌شود [۳۶].

از آن‌جایی که در این مطالعه عصاره هیدروالکلی دانه گیاه عدس‌الملک اثرات ضد دردی خوبی از خود نشان داد و با توجه به این‌که در دو آزمون HP و TF داروهای ضد درد مرکزی و در آزمون رایتینگ ناشی از تزریق اسید استیک داروهای ضد درد محیطی و در آزمون فرمالین داروهای موثر محیطی و مرکزی اثر داشته و موجب کاهش درد می‌شوند، لذا به‌نظر می‌رسد عصاره دارای ترکیب و یا ترکیباتی است که شبیه داروهای ضد محیطی و مرکزی عمل کرده و منجر به کاهش دردهای محیطی و احشایی شده است. با انجام آزمایشات تکمیلی به‌خصوص بررسی نقش گیرنده‌های مختلف در بروز اثرات ضد دردی و طراحی، انجام تحقیقات، و اثبات اثرات ضد دردی این گیاه در انسان، می‌توان توصیه نمود به جای داروهای ضد درد شیمیایی که دارای عوارض جانبی متعددی نیز می‌باشند از عصاره این گیاه استفاده شود.

این مقاله بر اساس نتایج طرح تحقیقاتی مصوب شورای پژوهشی دانشگاه به شماره ۵۵۳ و پایان‌نامه آقای سجاد صادقی دانشجوی پزشکی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

از همکاران محترم مرکز تحقیقات فیزیولوژی که در انجام این تحقیق همکاری لازم داشتند تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

[1] Hochain P, Capet C, Colin R. Digestive complications of aspirin. Rev Med Intern 2000; 21: 50S-59S.

[2] Pilotto A, Franceschi M, Leandro G. The risk of upper gasterointestinal bleeding in elderly users of aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs: the role of gasteroprotective drugs. Aging Clin Exp Res 2003; 15: 494-499.

[3] Sur R, Martin K, Liebel F. Antiinflammatory activity of parthenolidedepleted feverfew (Tanacetum parthenium). Inflammopharmacology 2009; 17: 42-49.

[4] Ekhtiari H, Behzadi A, Sadeqi M. Recognition and treatment of addiction. 1th ed. Tehran: Arjomand Publishing 2002; 14- 31 (Persian).

[5] Pahlavan Y, Sepehri GR, Afarinesh Khaki MR, Sheibani V, Esmail Pour Bezenjani K, Pahlavan B. Intervention of morphine and naloxone on analgesic effects of origanum vulgare extract in male rat. J Ardabil Univ Med Sci 2011; 11: 134-142. (persain).

[6] Garjania A, Fathiazadb F, Zakherib A, Allaf Akbari N, Azarmiec Y, Fakhrjood A.The effect of total extract of Securigera securidaca L. seeds on serum lipid profiles, antioxidant status, and vascular function in hypercholesterolemic rats. J Ethnopharm 2009; 126: 525-532.

[7] Ghahraman A. Iranian chormofits. V 1. Tehran: Academic Publication Center; 1994; 191. (Persian).

[8] Amin GH. Iran Traditional Medical Herbs, 1991; 131.

[9] Johar M. Phytochemical study of securigera securidaca, dissertation for PhD degree in pharmacy, Tehran Unive Med Sci 1987.

[10] Zatula VV, Chernobrovaya NV, Kolesnikov DG. The structure of securigenin and its bioside securidaside, Khimiya Prirodnykh Soedinenii, 1966; 2: 438-439.

[11] Pouramir M, Shahaboddin1 ME, Moghadamnia AA, Parastouei K. To study the effects of Securigera securidaca (L.) seed against alloxan-induced hyperglycemia. J Medicin Plant Res 2011; 5: 3188-3191.

[12] Amin Gh. The most common traditional herbal plants of Iran. Tehran: ethics and history of medicine research center 2005: 240. (Persian).

[13] Hoodgar F, Nasri S, Amin GR. Investigation of antinociceptive and anti-inflammatory effects of hydro-alcoholic extract of securigera securidaca L. Ofogh-e-Danesh 2011; 17: 12-19. (Persian).

[14] Chatterjee ML, De MS, Roy AR. Pharmacological studies on the seeds of Scurigera securidaca on normal blood sugar of cat and rabbit. Bull Calcutta Sch Trop Med 1965; 13: 12-14.

www.SID.ir

Archive of SID

[15] Balasubramanian S, Zhu L, Eckert R. Apigenine inhibition of involucrin gene expression is associated with a specific reduction in phosphorylation of protein kinas C Tyr 311. J Biol Chem 2006; 281: 36162-36172.

[16] Fathi Azad F, Allaf Akbari N, Zakheri A, Andalib S, Maleki Dizaji N, Ghareh Bagheri A, et al. Hypolipidemic and antioxidant effects of Securigera securidaca L. seed in high fat fed rats. Pharmaceutical Sci 2010; 15: 293-301.

[17] Mard SA, Bahari Z, Eshaghi N, Farbood Y. Antiulcerogenic effect of Securigera securidaca L. seed extract on various experimental gastric ulcer models in rats. Pak J Biol Sci 2008; 11: 2619-2623.

[18] Fllah-Hosseini H, Hosseini P, Heshmat R, Yazdani D, Rahmani M, Hemmati-Moghaddam AR. Effect of Securigera securidaca (L.) seeds on blood glucose in type II diabetic patients a double-blind randomized clinical study. J Med Plant 2006; 20: 75-79.

[19] Zahedi-Asl S, Marahel H, Zare B. Study on the effect of chloroformic extract of Securigera securidaca on serum glucose level and liver glycogen content of mice. J Kerman Unive Med Sci 2005; 12: 32-38. (Persian).

[20] al-Hachim GM, Maki B. Effect of securigera securidaca on electroshock seizure threshold in mice. Psychol Rep 1969; 24: 551-553.

[21] Mehmet O, Yagiz U, Mehmet G. Comparison of the effects of specific and nonspecific inhibition of nitric oxide synthase on morphine analgesia, tolerance and dependence in mice. Life Sci 2003; 72: 1943-1951.

[22] Rang HO, Date MM, Ritter JM. Text book of pharmacology, 3rd ed. New York: Churchill & Livingstone; 1999: 148: 609-633.

[23] Davidson EM, Coggeshal RE, Carlton SM. Peripheral NMDA and non-NMDA glutamate receptors contribute to nociceptive behaviors in the rat formalin test. Neuroreport 1997; 8: 641-646.

[24] Campbell JN, Meyer RA. Mechanisms of neuropathic pain. Neuron 2006; 52: 77-92.

[25] Shahidi S, Pahlevani P. Antinociceptive effects of an extract of securigerasecuridaca and their mechanisms in mice. Neurophysiol 2013; 45: 48-53.

[26] Taherian AA, Babaei M, Vafaei AA, Jarrahi M, Jadidi M, Sadeghi H. Ntinoceceptive effects of hydroalchoholic extract of Thymus Vulgaris. Pak J Pharm Sci 2009; 22: 83-89.

[27] Taheriana AA, Vafaei AA, Ameri J. Opiate system mediate the antinociceptive effects of coriandrum sativum in mice. Iranian J Pharm Res 2012; 11: 679-688.

[28] Woolfe G, Macdonald AD. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (demerol). J Pharmacol Exp Ther 1944; 80: 300-307.

[29] D'Amour FE, Smith DL. A method for determining loss of pain sensation. J Pharmacol Exp Ther 1941; 72: 74-79.

[30] Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine and brain stem stimulation in rats and cats. J Pain 1977; 4: 161-174.

[31] Ahmed F, Selim MS, Das AK, Choudhuri MS. Antiinflammatory and antinociceptive activities of Lippia nodiflora Linn. Pharmazie 2004; 59: 329-333.

[32] Forman LJ. NMDA receptor antagonism produces antinociception which is partially mediated by brain opiods and dopamine. Life Sci 1999; 64: 1877-1887.

[33] Chapman CR, Casey KL, Dubner R, Foley KM, Gracely RH and Reading AE. Pain measurement: an overview. Pain 1985; 22: 1-31.

[34] Morales L, Perez-Garcia C and Alguacil LF. Effects of yohimbine on the antinociceptive and place conditioning effects of opioid agonists in rodents. Br J Pharmacol 2001; 133: 172-178.

[35] Shibatta M, Ohkubo T, Takashi H and Inoki R. Modified formalin test, characteristic biphasic pain response. J Pain 1989; 38: 347-352.

[36] Malmberg AB, Yaksh TL. Antinociceptive actions of spinal anti-inflammatory agents on the formalin test in the rat. J Pharmacol Exp Ther 1992; 263: 136-146.

[37] Besra SE, Sharma RM, Gomes A. Anti-inflammatory effect of petroleum ether extract of leaves of Litchi chinensis Gaertn (Sapinadaceae). J Ethnopharmacol 1996; 54: 1-6.

[38] Abbott F, Young SN. Effect of 5-hydroxy tryptanin precursors on morphine analgesia in the formalin test. Pharmacol Biochem Behav 1988; 31: 855-860.

[39] Furst S, Gyires K, Knoll J. Analgesic profile of rimazolium as compared to different classes of painkillers. Drug Res1988; 4: 552-557.

[40] Abbott FV, Melzack R. Brainstem lesions dissociated neural mechanisms of morphine analgesia in different kinds of pain. Brain Res 1982; 251: 149-155.

[41] King TE, Joynes RL, Grau JW. Tail-flick test: II. The role of supraspinal systems and avoidance learning. Behav Neurosci 1997; 111: 754-767.

[42] Irwin S, Houde RW, Bennett DR, Hendershot LC, Steevers MH. 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.

[43] Bonnycastle DD, Cook L, Ipsen J. The action of some analgesic drugs in intact and chronic spinal rats. Acta Pharm Toxicol 1953; 9: 332-336.

[44] Sinclair JG, Main CD, Lo GF. Spinal vs supraspinal actions of morphine on the rat tail-flick reflex. Pain 1988; 33: 357-362.

[45] Elisabetsky E, Ammador TA, Albuquerque RR, Nunes DS, Carvalho Ado C. Analgesic activity of psychotria colorata (Wild ex R.&S.) Muell, Argalkaloids. J Ethnopharmaco 1995; 48: 77-83.

[46] Hunskaar HS, Berge OG, and Hole K . A modified hot-plate test sensitive to mild analgesics. Behav Brain Res 1986; 21: 101-108.

[47] Hunskaar S, Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. J Pain 1987; 30: 103-114.

[48] Yashpal K, Coderre TJ. Influence of formalin concentration on the antinociceptive effects of anti-inflammatory drugs in the formalin test in rats: separate mechanisms underlying the nociceptive effects of low- and high-concentration formalin. Eur J Pain 1998; 2: 63-68.

[49] Tjølsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. Pain 1992; 51: 5-17.

[50] Coderre TJ, Fundytus ME, McKenna JE, Dalal S, and Melzack R The formalin test: a validation of the weighted-scores method of behavioural pain rating. Pain 1993; 54: 43-50.

[51] Hasan SM, Hossain MM, Akter R, Jamila M, Mazumder ME, Alam MA, et al. Analgesic activity of the different fractions of the aerial parts of Commelina benghalensis Linn. Int J Pharm 2010; 6: 63-67.

[52] Deraedt R, Joughney S, Delevakee F, Falhour M. Release of prostaglandin E and F in an algogenic reaction and its inhibition. Eur J Pharmacol 1980; 51: 17-24.

[53] Ribeiro RA, Vale ML. Thomazzi SM. "Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice". Eur J Pharm 2000; 387: 111-118.

[54] Voilley N. Acid-sensing ion channels (ASICs): new targets for the analgesic effects of non-steroid anti-inflammatory drugs (NSAIDs). Current Drug Targets 2004; 3: 71-79.

www.SID.ir

Archive of SID

Effects of hydroalchoholic extract of Securigera securidaca L. seed on acute, chronic and visceral pain in male albino mice

Hamid-Reza Sameni (Ph.D)[1], Majid Jadidi (Ph.D)[2], Sajad Sadeghi (M.D Studemt)[3], Shima Sharifi (M.D Studemt)[3], Abbas Ali Taherian (M.D)[*4]

1 - Research Center of Nervous System Stem Cells, Dept. of Anatomical Sciences, School of Medicine, Semnan University of Medical sciences, Semnan, Iran

2 - Research Center of Physiology and Department of Medical Physics, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

3- Student Research Committee, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

4 - laboratory of pain Research Center of Physiology, School of Medicine, Semnan University of Medical sciences, Semnan, Iran

(Received: 5 Aug 2015; Accepted: 6 Oct 2015)

***Introduction*:** Studies have shown that *Securigera securidaca L. seed* (SS) has anti-epileptic, anti-diabetic, anti-hypertensive, hypokalemic, hypoglysemic, diuretic and anti-convulsion effects. The present study was designed to test the antinoceceptive effects of hydro alcoholic extract of SS seed on acute, chronic, and visceral pain in mice.

Material and Methods: Young adult male albino mice (n =160) within the weight range of 25-30 g were randomly divided into 20 groups (n = 8). SS (100, 200, and 500 mg/kg) and vehicle (VEH) were administered (IP) 30 min before the pain evaluation tests. Acute and chronic pain was assessed by Hot Plate, Tail Flick, Formalin and Writhing (visceral pain) tests.

Results: Results indicated that SS had analgesic effects ($P < 0.05$) in comparison to the control group and the highest dose was more effective ($P < 0.001$).

Conclusion: The finding of this study showed that SS has inhibitory effects on pain in experimental animals.

Keywords: *Securigera Securidaca*, Acute Pain, Chronic Pain, Visceral Pain, Mice.

* Corresponding author. Tel: 23 33354218

Taherian 99@yahoo.com

www.SID.ir