

تأثیر عصاره هیدروالکلی سرشاخه‌های گل دار پونه‌سای سبلانی بر درد و التهاب در موش کوچک نر

نویسندگان:

سوسن اسدی بالین شریف آبادی^۱، سیما نصری^{۲*}، غلامرضا امین^۲، سایه بیداران^۱

۱- گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲- گروه فارماکوتوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

Journal of Jahrom University of Medical Sciences, Vol. 11, No. 3, Fall 2013

چکیده:

مقدمه: کاربرد گیاهان دارویی به جای داروهای سنتتیک در سال‌های اخیر به دلیل عوارض جانبی کم‌تر و ترکیبات مؤثر متنوع‌تر گیاهان افزایش یافته است. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر ضد دردی و ضد التهابی گیاه پونه‌سای سبلانی می‌باشد.

روش کار: در این پژوهش از ۲۲۴ سر موش سوری نر استفاده شد. از آزمایش گزین برای بررسی اثرات ضد التهابی و آزمایش فرمالین و آزمایش غوطه‌وری در آب داغ برای تعیین اثرات ضد دردی گیاه استفاده شد.

یافته‌ها: عصاره گیاه پونه‌سای سبلانی موجب کاهش معنادار درد در مرحله حاد و مزمن در آزمایش فرمالین شد که بیش‌ترین اثر ضد دردی را دوز ۲۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم داشت. نتایج آزمایش التهاب نشان داد که اثر ضد التهابی دوز ۲۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیش از دگزامتازون می‌باشد. در ضمن در آزمایش غوطه‌وری در آب داغ دوز ۱۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنادار درد دیده شد.

نتیجه‌گیری: یافته‌ها حاکی از این بود که عصاره تام گیاه سبب کاهش درد می‌شود و همچنین التهاب را بیش از دگزامتازون می‌کاهد. به نظر می‌رسد این اثرات به دلیل داشتن موادی از جمله نیتالاکتون و ۱ و ۸- سینئول می‌باشد که در عصاره تام گیاه وجود دارند. برای پی بردن به سازوکارهای ضد دردی این عصاره نیاز به تحقیقات بیش‌تری می‌باشد.

واژگان کلیدی: ضد درد، عصاره گیاهی، موش کوچک

J Jahrom Univ Med Sci 2013; 11(3): 1-9

مقدمه:

۲- اویپوئیدهای برون‌زا ترکیب‌هایی مانند مورفین هستند که در خارج از بدن وجود دارند و به عنوان داروهای درد مصرف می‌شوند.

گیاهان از اولین مواد دارویی بودند که در درمان به کار گرفته شدند. بر اساس تجربه، آن دسته از گیاهان که بیماری‌های مختلف را به طور مؤثر درمان می‌کنند به عنوان گیاهان شفابخش یا گیاهان دارویی شناخته شده‌اند [۴]. با سنتز داروهای شیمیایی درد و ورود آن‌ها به بازار دارویی و استفاده وسیع از آن‌ها برای تسکین درد، طیف وسیع عوارض جانبی آن‌ها پدیدار شده است [۵]. استفاده از این داروها مشکلاتی مانند مقاومت به دارو، وابستگی، سرخوشی و غیره ایجاد می‌کند

درد تجربه حسی نامطبوعی است که در همه جانداران مشترک است، ولی حساسیت افراد نسبت به محرک‌های درد از متفاوت است. درد به عنوان یک تجربه حسی محافظتی دارای طیف وسیعی می‌باشد [۱]. در واقع هر نوع حسی که توسط محرک‌های آسیب‌رسان یا نابود کننده بافت‌ها ایجاد شود، درد تلقی می‌شود [۲]. از ترکیباتی که دارای خاصیت ضد دردی می‌باشند می‌توان از اویپوئیدها نام برد که به دو دسته تقسیم می‌شوند:

۱- اویپوئیدهای درون‌زا که به طور طبیعی در بدن یافت می‌شوند و در سرکوب و مهار درد مؤثر هستند.

* نویسنده مسئول، نشانی: تهران، دانشگاه پیام نور، گروه علمی زیست شناسی، صندوق پستی ۴۶۹۷-۱۹۳۹۵

پست الکترونیک: s_nasri1@pnu.ac.ir

تلفن تماس: ۰۲۱۸۸۹۱۳۴۷۵

پذیرش: ۹۲/۷/۱۶

اصلاح: ۹۲/۴/۳۰

دریافت: ۹۱/۳/۲۳

روش کار:

در این مطالعه تجربی، از ۲۲۴ سر موش کوچک نر با وزن تقریبی ۲۰ تا ۲۵ گرم (تهیه شده از انستیتو پاستور تهران)، پس از دو روز تطابق با محیط حیوان خانه دانشگاه پیام نور تهران در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دسترسی آزاد به آب و غذا (شرکت خوراک دام پارس کرج) استفاده شد. تمام آزمایش‌ها روی حیوانات مطابق قوانین کمیته اخلاق زیستی دانشگاه پیام نور انجام شد. برای استخراج عصاره، نمونه‌های گیاهی از یک عطاری در بازار تهران خریداری شد و سپس جنس و گونه گیاه در هر بار بوم بخش فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه تهران مورد تأیید قرار گرفت. عصاره‌گیری با روش سوکسله انجام شد. برای این کار ۵۰ گرم پودر بخش‌های هوایی گیاه پونه‌سای سبلانی داخل کاغذ صافی با سوراخ‌های بسیار ریز قرار داده شد. سپس حلال مورد نظر (اتانول ۷۰ درجه) را در فلاسک ریخته و قسمت فوقانی دستگاه روی آن قرار داده و درجه حرارت مطابق نقطه جوش حلال تنظیم شد. پس از این که بخار حلال به وسیله دستگاه مبرد خنک و مایع شد، قطره قطره در پودر خام ریخته شد. هنگامی که سطح حلال به سیفون رسید، به طور اتوماتیک تخلیه و در فلاسک جمع‌آوری شد. این فرایند به طور مرتب تا ۴ ساعت ادامه یافت تا عمل استخراج روی پودر خام مورد آزمایش کامل شود [۱۶-۱۵].

روش تعیین دوز کشنده عصاره: به منظور تعیین دوز کشنده عصاره هیدروالکلی گیاه پونه‌سای سبلانی از ۵۶ سر موش سوری نر استفاده شد. موش‌ها به گروه‌های ۸ تایی تقسیم شدند. سپس عصاره گیاه با دوزهای مختلف به صورت داخل صفاقی به آن‌ها تزریق شد. کم‌ترین دوز تزریقی با توجه به گونه‌های دیگر جنس نپتا ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن حیوان بود و اعداد بعدی با نسبت تصاعدی انتخاب شد (۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰، ۱۰۰۰۰، ۲۰۰۰۰، ۴۰۰۰۰). تعداد موش‌های مرده ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از هر تزریق شمارش شدند.

آزمایش فرمالین: در این مطالعه تجربی از آزمایش فرمالین ابداع شده توسط دنیس و دابوسون که مدلی برای ارزیابی درد است، استفاده شد [۱۷-۱۸]. برای انجام این آزمایش از هفت گروه هشت تایی موش‌ها که به طور تصادفی تقسیم شده بودند استفاده شد. گروه اول گروه کنترل منفی بودند که به آن‌ها نرمال سالین به صورت داخل صفاقی تزریق شد. گروه دوم گروه کنترل مثبت بودند که ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مورفین (حل شده در آب مقطر) به روش داخل صفاقی به آن‌ها تزریق شد. گروه‌های بعدی به عنوان گروه‌های تجربی (هر کدام شامل ۸ سر موش) عصاره گیاه را با دوزهای متفاوت (۲۸۰۰، ۷۰، ۳۵۰، ۷۰۰، ۱۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت

[۶]. از این رو تمایل به بررسی اثرات گیاهان دارویی شکل گرفته است. با توجه به بازنگری دقیق گیاهان درمانی در بیش‌تر کشورهای دنیا و وجود منابع غنی از گیاهان دارویی در ایران - به لحاظ تنوع اقلیم آب و هوایی و گستردگی پوشش گیاهی - لزوم تحقیق روی گیاهانی که در طب سنتی یا پزشکی نوین به عنوان ضد درد توصیه شده‌اند، احساس می‌شود [۷].

جنس نپتا (*Nepeta*) (تیره نعناع) که با نام فارسی پونه‌سا شناخته می‌شود، دارای ۲۵۰ گونه می‌باشد که از شمال آفریقا تا اروپا و آسیا پراکنده هستند. تاکنون ۶۷ گونه از این جنس در ایران شناسایی شده است که ۳۹ گونه آن‌ها بومی ایران می‌باشند [۸]. گونه‌های مختلف این جنس از قدیم به دلیل اثرات ضد تشنج، ضد سرفه و آسم، اثرات ضد عفونی‌کننده و مدر در طب سنتی مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۹]. در طب سنتی ایران گونه‌های *N. bracteata* و *N. ispanica* به عنوان برطرف‌کننده آسم و ضد نفخ، گونه *N. racemosa* به عنوان برطرف‌کننده دردهای معده و ضد عفونی‌کننده و ضد نفخ و گونه *N. menthoides* به عنوان آرام‌بخش، پایین آورنده تب و برطرف‌کننده دردهای معده مصرف می‌شوند [۱۰]. گونه *N. cataria* به عنوان داروی رسمی با اثر درمانی معرفی شده است. برگ‌ها و سرشاخه‌های هوایی این گونه به صورت چای مسکن برای رفع بی‌خوابی، سردرد، ضد نفخ و اسپاسم مصرف می‌شود [۱۱].

گونه *N. menthoides* Boiss. & Buhse یا پونه‌سای سبلانی یکی از گونه‌های انحصاری از تیره نعناع در ایران می‌باشد که در شمال غرب کشور و منطقه‌ی آذربایجان پراکنده است. در فلور ایرانیکا کوه سبلان و مناطق اطراف جاده صوفیان به مرند جزو مناطق پراکنش این گونه ذکر شده است. با این حال بررسی‌های جدید از پراکنش وسیع آن در شمال غرب کشور حکایت دارد. پونه‌سای سبلانی علی‌رغم معطر بودن کم‌تر مورد استفاده‌ی اهالی بومی منطقه بوده و تحت نام محلی - *یاوا* یا *یارپیز* - در استان اردبیل شناخته می‌شود، ولی به دلیل وجود ترکیبات شیمیایی مشابه با سایر گونه‌های پونه‌سا به نظر می‌رسد خواص دارویی قابل توجهی داشته باشد. پونه‌سای سبلانی گیاهی است علفی، چند ساله، بالارونده و افراشته به ارتفاع ۱۵ تا ۴۰ سانتی‌متر که واجد گل‌های بنفش فام می‌باشد [۱۲].

پیش‌تر مطالعاتی از این دست برای بررسی اثرات ضد دردی روی برخی گونه‌های نپتا از جمله گونه‌های *Nepeta caesarea* و *N. Italica* L. انجام شده است، ولی در تحقیق حاضر برای اولین بار از عصاره هیدروالکلی گیاه *N. menthoides* برای بررسی اثرات ضد التهابی و ضد دردی استفاده می‌شود [۱۳-۱۴].

عنوان گروه کنترل منفی نرمال سالین و به گروه دوم به عنوان گروه کنترل مثبت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مورفین (حل شده در آب مقطر) به روش داخل صفاقی تزریق شد. چهار گروه دیگر به عنوان گروه‌های تجربی عصاره گیاه با دوزهای متفاوت (۲۸۰۰، ۷۰، ۳۵۰، ۷۰۰، ۱۴۰۰) میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت تک دوز برای هر حیوان و به روش داخل صفاقی دریافت کردند. کلیه تزریقات ۱۵ دقیقه قبل از قرار گرفتن در محفظه محدودکننده انجام می‌شد. برای انجام این آزمایش حیوان به مدت ۱۵ دقیقه در داخل محفظه محدودکننده موش در تحت شرایط استاندارد آزمایشگاه قرار گرفته و سپس دم حیوان در داخل آب داغ در دمای ۴۹ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار می‌گرفت و میزان تأخیر در بیرون کشیدن دم از آب با استفاده از زمان سنج اندازه‌گیری می‌شد. آزمایش روی هر حیوان ۴ بار با فاصله زمانی ۵ دقیقه تکرار شد و در نهایت میانگین داده‌ها برای هر موش ثبت شد. زمان قطع آزمایش در صورت بیرون نکشیدن دم نیز ۳۰ ثانیه در نظر گرفته شد.

تحلیل داده‌ها: در هر گروه از آزمایش‌ها، اثر دوزهای مختلف به صورت میانگین \pm انحراف معیار برای هشت موش ثبت شد. انتخاب داده‌ها به شکل کاملاً تصادفی صورت گرفت. برای تعیین وجود اختلاف معنادار میان گروه‌هایی که غلظت‌های متفاوت عصاره دریافت کرده بودند با گروه‌های کنترل، از تحلیل واریانس یک‌طرفه و به دنبال آن از آزمون توکی با در نظر گرفتن سطح معناداری $p < 0.001$ استفاده شد. پس از اتمام آزمایش‌ها موش‌ها به روش قطع نخاع کشته شدند [۲۳].

یافته‌ها:

با تزریق دوزهای مختلف عصاره و سپری شدن ۴۸ ساعت هیچ مورد موش مرده مشاهده نشد. با توجه به این که دوز ۴۰۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بسیار نزدیک به غلظت عصاره اولیه بود از تزریق بعدی اجتناب شد.

اثرات ضد التهابی: بررسی نتایج آزمایش التهاب نشان داد که عصاره در مقایسه با گروه کنترل سبب کاهش التهاب می‌شود. بین گروه دریافت‌کننده دگزامتازون و عصاره با دوزهای ۲۸۰۰ و ۱۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنادار وجود نداشت و با افزایش میزان دوز عصاره، خاصیت ضد التهابی آن بیش‌تر می‌شد. بنابراین، دوز ۱۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اثری نزدیک به اثر دگزامتازون در کاهش التهاب ناشی از گزین (مقدار میانگین و انحراف معیار $10^{-5} \times 21.086 \pm 0.077$ این دوز در مقابل $10^{-5} \times 1.07 \pm 0.077$ دگزامتازون، $p < 0.01$) و اثر ضد التهابی دوز ۲۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیش از دگزامتازون می‌باشد (مقدار میانگین و انحراف معیار $10^{-6} \times 7.05 \pm$

تک دوز برای هر حیوان و به روش داخل صفاقی دریافت کردند (همه تزریقات ۳۰ دقیقه قبل از تجویز فرمالین بود). تزریقات درون صفاقی ۱۵ دقیقه بعد از قرارگیری حیوان در زیر قیف شیشه‌ای روی جعبه درد با ابعاد $30 \times 30 \times 30$ که به منظور مشاهده بهتر حرکات موش، آینه‌ای با زاویه‌ی ۴۵ درجه زیر آن و روبه‌روی مشاهده‌کننده تعبیه شده بود انجام گرفتند [۱۹]. بلافاصله پس از تزریق عصاره، حیوان برای سازگاری با محفظه آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در زیر قیف قرار داده شد. سپس ۰/۲ میلی لیتر فرمالین ۲/۵٪ (خریداری شده از شرکت Romil انگلیس) به زیر پوست کف پای راست حیوان به صورت زیر جلدی تزریق و حیوان بار دیگر به داخل جعبه مخصوص آزمایش برگردانده شد. حرکات حیوان در این مرحله طی دو مرحله بررسی شد. هنگامی که حیوان پای راست را لیسیده، جویده یا به شدت تکان می‌داد به عنوان زمان لیسیدن در نظر گرفته شد. میانگین زمان لیسیدن در فاصله زمانی بین ۵-۰ دقیقه به عنوان مرحله اول درد و میانگین زمان لیسیدن در دقایق ۱۵-۳۰ به عنوان مرحله دوم یا محیطی آزمایش فرمالین در نظر گرفته شد (حجم تزریق داروها و عصاره‌ها تا ۰/۱ میلی‌لیتر بود) [۲۰].

آزمایش گزین: برای انجام این آزمایش، موش‌ها به طور تصادفی به هفت گروه هشت تایی تقسیم شدند. به گروه اول به عنوان گروه کنترل منفی نرمال سالین به صورت داخل صفاقی تزریق شد. به گروه دوم که گروه کنترل مثبت بود ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم دگزامتازون (حل شده در نرمال سالین) به روش داخل صفاقی تزریق شد. به پنج گروه تجربی عصاره گیاه با دوزهای متفاوت (۲۸۰۰، ۷۰، ۳۵۰، ۷۰۰، ۱۴۰۰) میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت تک دوز برای هر حیوان و به روش داخل صفاقی تزریق شد (کلیه‌ی تزریقات ۱۵ دقیقه قبل از تجویز گزین بود). سپس برای ایجاد التهاب در گوش موش‌ها از گزین (خریداری شده از شرکت Romil انگلیس) استفاده شد، به طوری که ۱۵ دقیقه بعد از تزریقات بیان شده ۰/۳ میلی‌لیتر گزین، در سطح قدامی و پشتی لاله گوش راست حیوان تزریق و دو ساعت بعد حیوان کشته شد [۲۱]. سپس برش‌های هفت میلی متری بریده شده از هر دو گوش چپ و راست حیوان وزن و اختلاف وزن آن‌ها مشخص شد. این اختلاف وزن میزان التهاب را نشان می‌دهد. به عبارت دیگر، هر چه اختلاف وزن دو گوش بیش‌تر باشد، میزان التهاب نیز بیش‌تر است [۳].

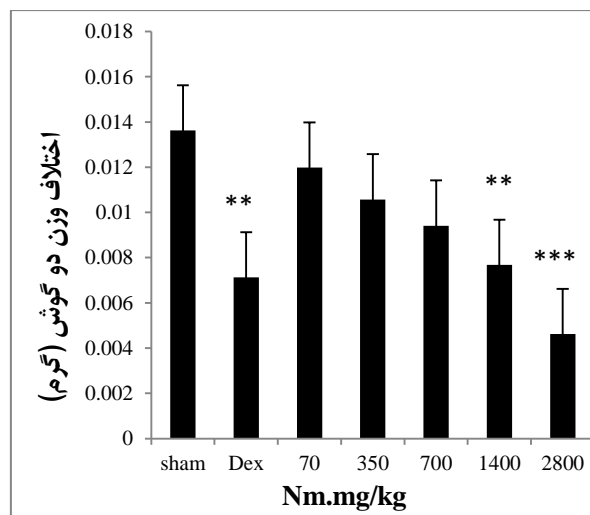
آزمایش غوطه‌ور کردن دم موش در آب داغ: این آزمایش به روش تشریح شده توسط کورتیکس و همکاران انجام گرفت [۲۲]. برای انجام این آزمایش موش‌ها به صورت تصادفی به شش گروه هشت تایی تقسیم شدند. به گروه اول به

کیلوگرم مؤثرترین دوز با اثر ضد دردی می‌باشد (میزان میانگین و انحراف معیار $۱/۶۹ \pm ۰/۴۶$ در دوز ۲۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه دریافت کننده مورفین $۱۵/۴۸ \pm ۲۹/۰۹$ ، $p < 0.001$).

آزمایش غوطه‌وری در آب داغ: در مورد آزمایش غوطه‌ور کردن دم در آب داغ که برای سنجش آستانه درد حرارتی کاربرد دارد، همه دوزها به جز دوز ۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معناداری با گروه کنترل داشتند (مقدار میانگین و انحراف معیار $۴/۸۴ \pm ۰/۱۲$ در دوز ۳۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و $۴/۴۷ \pm ۰/۷$ در دوز ۷۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و $۴/۵۲ \pm ۰/۲$ در دوز ۲۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل $۲/۸۲ \pm ۰/۸$ ، $p < 0.01$) و دوز ۱۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیش‌ترین زمان تأخیر در بیرون کشیدن دم را به خود اختصاص داد (مقدار میانگین و انحراف معیار $۵/۷۶ \pm ۰/۷۶$ در دوز ۱۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل $۲/۸۲ \pm ۰/۸$ ، $p < 0.001$). تمام نمودارها بر اساس میانگین و انحراف معیار رسم شده‌اند. طبق نمودار ۱ میانگین اختلاف وزن دو گوش برای گروه عصاره با دوز ۲۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کم‌ترین میزان و برای گروه کنترل منفی بیش‌ترین مقدار است. بر اساس آزمون توکی دوز ۲۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیش‌ترین اثر ضد التهابی را از خود نشان می‌دهد.

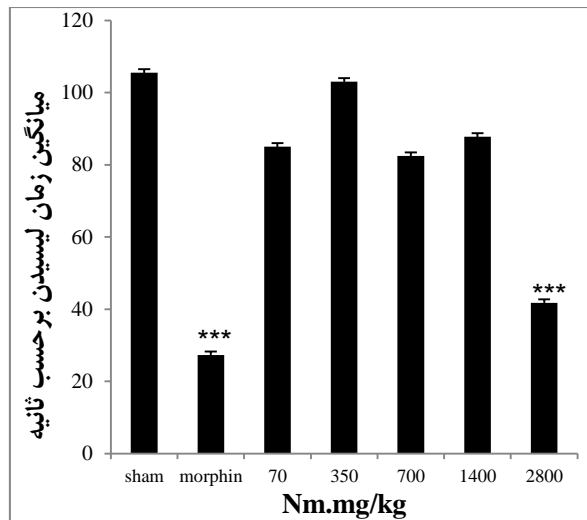
$۰/۰۰۴۶$ این دوز در مقابل $۱۰^{-۵} \times ۱/۰۷ \pm ۰/۰۰۷۱$ دگزامتازون، $p < 0.001$).

اثر ضد دردی: در مرحله اول آزمایش فرمالین (مرحله حاد درد) فقط دوز ۲۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنادار درد را نشان داد (مقدار میانگین و انحراف معیار $۴۱/۷۷ \pm ۸/۰۴$ این دوز در مقایسه با کنترل $۲۲/۴۱ \pm ۱/۰۵$ ، $p < 0.001$) (نمودار ۱). در مرحله دوم آزمایش فرمالین (مرحله مزمن درد)، تمامی دوزها به جز دوزهای ۷۰ و ۳۵۰ در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنادار درد را نشان دادند (مقدار میانگین و انحراف معیار $۲۸/۸۶ \pm ۱۸/۳۱$ در دوز ۷۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و $۱۵/۴۸ \pm ۲۶/۳۲$ در دوز ۱۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و $۱/۶۹ \pm ۰/۴۶$ در دوز ۲۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل $۱۰/۸۶ \pm ۲۵/۱۶$) (نمودار ۲). بر اساس آزمون توکی در این مرحله دوزهای ۱۴۰۰ و ۷۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه دریافت کننده مورفین، تفاوت معنادار با هم نداشتند (مقادیر میانگین و انحراف معیار $۱۸/۳۱ \pm ۲۶/۸۶$ در دوز ۷۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، $p < 0.01$ و $۱۵/۴۸ \pm ۲۶/۳۲$ در دوز ۱۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه دریافت کننده مورفین $۱۱/۴۱ \pm ۲۹/۰۹$ ، $p < 0.001$)، به این معنی که اثر ضد دردی مشابهی در این مرحله از خود نشان دادند (نمودار ۲). در مرحله دوم درد، با افزایش میزان دوز تزریقی، اثر ضد دردی عصاره نیز افزایش یافت، بنابراین دوز ۲۸۰۰ میلی‌گرم بر



$p < 0.01$ **، $p < 0.001$ *** تفاوت با گروه کنترل

نمودار ۱: نتایج حاصل از تزریق داخل صفاقی عصاره تام گیاه پونه‌سای سبلانی (Nm.) بر التهاب با استفاده از آزمایش گزین در مقایسه با گروه کنترل منفی.

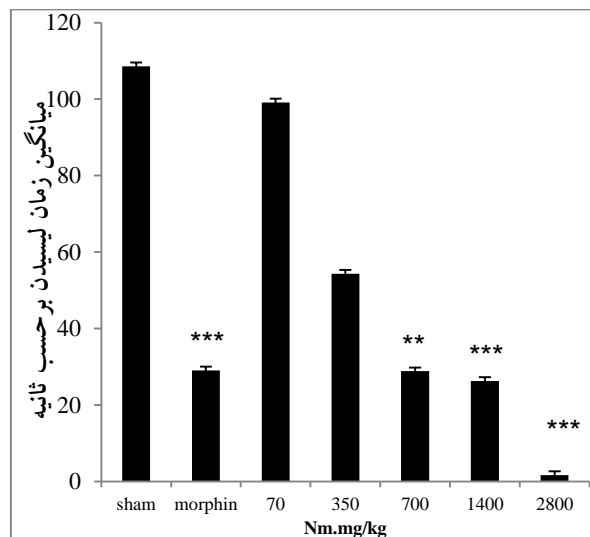


*** $p < 0.001$ تفاوت با گروه کنترل

نمودار ۲: نتایج حاصل از تزریق داخل صفاقی عصاره‌ی تام گیاه پونه‌سای سیلانی (Nm.) بر درد حاد (۵-۰ دقیقه) با استفاده از آزمایش فرمالین در مقایسه با گروه کنترل منفی.

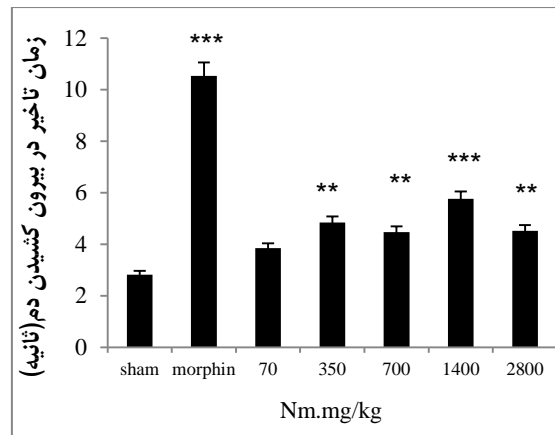
همان‌طور که در نمودار ۳ دیده می‌شود کم‌ترین زمان لیسیدن در این مرحله مربوط به دوز ۲۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از گروه تجربی و بیش‌ترین زمان مربوط به گروه کنترل منفی می‌باشد.

همان‌طور که در نمودار ۲ دیده می‌شود، میانگین زمان لیسیدن برای گروه کنترل مثبت (مورفین) کم‌ترین مقدار و برای گروه کنترل منفی بیش‌ترین مقدار است. بر اساس آزمون توکی بیش‌ترین اثر ضد دردی عصاره گیاه در مرحله حاد آزمایش فرمالین، مربوط به دوز ۲۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم است.



*** $p < 0.001$ ، ** $p < 0.01$ تفاوت با گروه کنترل

نمودار ۳: نتایج حاصل از تزریق داخل صفاقی عصاره‌ی تام گیاه پونه‌سای سیلانی (Nm.) بر درد مزمن (۱۵-۳۰ دقیقه) با استفاده از آزمایش فرمالین در مقایسه با گروه کنترل منفی.



گروه کنترل منفی. $p < 0.01$ **، $p < 0.001$ *** تفاوت با گروه کنترل

نمودار ۴: نتایج حاصل از تزریق داخل صفاقی عصاره تام گیاه پونه‌سای سبلانی (Nm.) بر درد حرارتی با استفاده از آزمایش غوطه‌وری دم در آب داغ در مقایسه با گروه کنترل منفی.

التهابی است که می‌تواند به وسیله داروهای ضد التهابی مهار شود [۱۸].

ترکیبات شیمیایی بسیاری از گیاهان با خصوصیات ضد دردی شناسایی شده‌اند که از آن جمله می‌توان به گروه فناترن، سالیسین، کانابینوئیدها، سالیسیک اسید و تعداد وسیعی از آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، کاپسایسینوئیدها، استروئیدها، فلاونوئیدها، گزانتین‌ها، تامین‌ها، گزافتون‌ها، لیگان‌ها، ساپونین‌ها، لاکتون‌ها و گلیکوزیدها اشاره نمود [۲۷].

نتایج مطالعه حاضر نشان دادند که تجویز عصاره هیدروالکلی گیاه نیپتا منتوئیدس علائم درد حاصل از تجویز فرمالین به کف پای حیوان را در مرحله دوم آزمایش فرمالین بیش‌تر کاهش می‌دهد. با توجه به اثرات ضد التهابی عصاره هیدروالکلی گیاهان این خانواده، عصاره این گیاه حاوی ترکیباتی با اثرات ضد التهابی محیطی است. پژوهشگران قبلاً نشان داده‌اند که عصاره تهیه شده در گونه‌های مختلف نیپتا غنی از فلاونوئیدها و تانن‌ها هستند. پیش‌تر مشخص شده است که فلاونوئیدها سنتز پروستاگلاندین‌ها را مهار می‌کنند و این ترکیبات مهم‌ترین عوامل التهابی فعال‌کننده گیرنده‌های محیطی درد هستند [۲۹-۲۸]. این امر را می‌توان مهم‌ترین سازوکار محیطی کنترل درد به وسیله متابولیت‌های موجود در این عصاره دانست. نکته جالب توجه آن است که به صورت بالینی نیز اکثر داروهایی که موجب توقف و یا کاهش پاسخ حیوان در مرحله مزمن این آزمایش می‌شوند و برای درمان دردهای مزمن و نوروپاتی‌ک به کار می‌روند، بر دردهای حاد و معمولی تأثیری نداشته و یا با اثر بسیار ناچیز می‌باشند [۳۱-۳۰].

مقایسه نتایج حاصل از کارهای پیشین انجام گرفته روی گیاه نیپتا منتوئیدس نشان می‌دهد که ترکیب اسانس گیاه مذکور

در مورد نمودار ۴ می‌توان گفت که همه‌ی دوزها به جز دوز ۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تأخیر زمانی معناداری بیش از گروه کنترل دارند. در تمام دوزها زمان تأخیر در بیرون کشیدن دم کم‌تر از گروه دریافت‌کننده مورفین است.

بحث:

نتایج حاصل از پژوهش کاربردی حاضر برای اولین بار اثر ضد التهابی و ضد دردی عصاره تام بخش‌های هوایی پونه‌سای سبلانی (اسطوخودوس) را تایید می‌کند. احتمالاً بخش عمده‌ای از آثار ضد دردی این گیاه از مهار التهاب (مرحله دوم درد) ناشی می‌شود. به علاوه، عصاره هیدروالکلی گیاه دارای خاصیت ضد دردی مؤثرتری نسبت به مورفین در مرحله دوم آزمایش فرمالین است. در آزمایش فرمالین، بیان درد در دو مرحله اتفاق می‌افتد [۲۴]. مرحله اول حاصل تحریک مستقیم گیرنده‌های درد است، درحالی‌که، مرحله دوم منعکس‌کننده ارسال پیام درد حاصل از فرآیندهای التهابی محیطی است که باعث بروز درد می‌شود [۲۵]. در مرحله اول درد (درد نورونیک) ماده‌ی P و برادی‌کینین و در مرحله دوم درد (درد التهابی - محیطی) هیستامین و پروستاگلاندین‌ها نقش دارند که این امر نیز می‌تواند خود بیانگر التهابی بودن مرحله دوم باشد [۲۶]. داروهایی با فعالیت مرکزی مانند اوپیوئیدها هر دو مرحله را به طور یکسانی مهار می‌کنند. اثر تولید شده در مرحله اولیه احتمالاً منجر به اثرات فوری و مستقیم آن‌ها بر گیرنده‌های حسی، گیرنده‌های برادی‌کینین یا مسیر گلوتاماترژیک می‌شود [۲۶]. درحالی‌که مرحله ثانویه وابسته به پاسخ‌های التهابی القا شده توسط آبشار اسید آراشیدونیک است. احتمالاً مرحله ثانویه پاسخی به درد

نتیجه‌گیری:

بر اساس یافته‌های حاصل از این تحقیق، عصاره هیدروالکلی تام بخش‌های هوایی گیاه پونه‌سای سبلانی موجب کاهش معنادار درد در آزمایش فرمالین (مرحله حاد و مزمن) در مقایسه با گروه شاهد شد. همچنین عصاره بخش‌های هوایی این گیاه دارای اثر ضد التهابی بارزی بود که با اثر دگزامتازون برابری و حتی پیشی می‌گیرد. خاصیت ضد دردی و ضد التهابی گیاه را می‌توان به وجود ترکیبات موجود در عصاره نسبت داد. به منظور تعیین سازوکارهای ضد دردی و ضد التهابی و تأثیر ترکیبات موجود در این عصاره بر درد و التهاب، نیاز به پژوهش‌های پیش‌تری است.

تشکر و قدردانی:

بدین وسیله از کارشناس آزمایشگاه تحقیقات رفتاری مرکز تهران شرق و همچنین تکنسین هرباریوم گروه فارماکولوژی دانشگاه تهران جناب آقای بدرخانی برای یاری در انجام پژوهش حاضر تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع: نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی در این مطالعه نداشته‌اند.

بسته به نوع زیستگاه می‌تواند متغیر باشد. نتایج بدست آمده از این پژوهش‌ها نشان می‌دهد که ترکیب شاخص اسانس نمونه جمع‌آوری شده از دامنه سهند را نیتالاکتون تشکیل می‌دهد و این در حالی است که در نمونه جمع‌آوری شده از کوه سبلان ترکیب شاخص اسانس ۱ و ۸- سینئول می‌باشد که قریب به ۵۹٪ کل اسانس را شامل می‌شود و در این نمونه ترکیب نیتالاکتون وجود ندارد [۳۲-۳۴].

در مطالعه انجام شده در سال ۲۰۰۰ مشخص شد که مصرف ۱ و ۸- سینئول درد و التهاب را کاهش می‌دهد [۳۵]. نیتالاکتون نیز ترکیبی با ساختار ترپنوئید دو حلقه است که اولین بار در سال ۱۹۴۱ از گیاه *N. cataria* جدا شد و در پژوهش‌ها از آن به عنوان یک ترکیب ضد درد اویپوئید نام برده می‌شود [۱۳، ۳۶]. با توجه به تحقیق حاضر به نظر می‌رسد نتایج بدست آمده از ۱ و ۸- سینئول موجود در عصاره گیاه ناشی می‌شود که در مهار درد التهابی کاربرد دارد.

با استفاده از مدل آزمایش فرمالین در مرحله مزمن مشخص شد که عصاره هیدروالکلی بخش‌های هوایی گیاه پونه‌سای سبلانی در ایجاد اثرات ضد درد به صورت وابسته به دوز عمل می‌کند. هرچند سازوکار عمل عصاره گیاه مشخص نمی‌باشد، ولی نتایج تحقیق حاضر تأیید کننده اثرات ضد دردی گیاه است.

References:

- Kandel ER, Schwartz JH. Principle of neural science. New York: McGraw Hill; 1985: 113-9.
- Lindsley DF, Holmes JE. Basic human neurophysiology. Vancouver: Elsevier; 1984: 113-9.
- Bedayat B. Aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. Tehran: Taymorzadeh; 2006: 10-32. (Persian)
- Leppert W. The role of opioid receptor antagonists in the treatment of opioid-induced constipation: a review. Adv Ther 2010; 27(10): 714-30.
- Payan DG, Katzung BG. Nonsteroidal anti-inflammatory drug: nonopioid analgesic drug used in gout. In: Katzung BG (ed). Basic and clinical pharmacology. 6th ed. London: Prentice Hall International; 1995: 536-60.
- Elisabetsky E, Amador TA, Albuquerque RR, et al. Analgesic activity of *Psychotria colorata* (Wild ex R. & S.) Muell. Arg. alkaloids. J Ethnopharmacol 1995; 48(2): 77-83.
- Heidari MR, Sharififar F, Haji Aghayee A. Study the analgesic effect of Piper Nigrum extract by formalin test in mice. J Shahid Beheshti Univ Med Sci 2001; 24(4): 277-85. (Persian)
- Mozaffarian V. A Dictionary of Iranian Plant Names. Tehran: Farhang Moaser; 1996: 360-4. (Persian)
- Sajjadi SE. Analysis of the Essential oil of *Nepeta sintenisii* Bornm. Daru J 2005; 13(2): 61-4. (Persian)
- Amin GH. Popular herbal medicine in Iran. Tehran: Tehran Univ Press; 1992. (Persian)
- Zargari A. Medical plants. 5th ed. Vol. 4. Tehran: Tehran Univ Press; 1995: 1-42. (Persian)
- Rechinger KH. Flora Iranica. No. 150. Graz, Akademische Druck-U. Verlagsanstalt; 1982: 180-90.
- Aydin S, Beis R, Oztürk Y, et al. Nepetalactone: A new opioid analgesic from *Nepeta caesarea* Boiss. J Pharm Pharmacol 1998; 50(7): 813-7.
- Aydin S, Demir T, Oztürk Y, et al. Analgesic activity of *Nepeta italica* L. Phytother Res. 1999; 13(1): 20-3.
- Samsam Sh. Extraction and exploitation of herbal plant effective components and methods of their recognition. 2nd ed. Tehran: Mani; 2007: 10-20. (Persian)
- Amin Gh. The most common traditional herbal plants of Iran. Tehran: Ethics And History of Medicine Research Center; 2005: 240. (Persian)
- Ramezani M, Nasri S, Yassa N. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of isolated fractions from *Apium graveolens* seeds in mice. Parm Biol 2009; 47(8): 740-743.

18. Shibata M, Okhubo T, Takahashi H, et al. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. *Pain* 1989; 38(3): 347-52.
19. Sadeghi H, Ghaitasi I, Mazrooghi N, et al. The Hepatoprotective effects of Dorema auchri on carbon tetrachlorid induced liver toxicity in rats. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2007; 6(1): 38-43. (Persian)
20. Alreja M, Mutalik P, Nayar U, et al. The formalin test: a tonic pain model in the primate. *Pain* 1984; 20(1): 97-105.
21. Hosseinzadeh H, Younesi MH. Antinociceptive and antiinflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice. *BMC Pharmacol* 2002; 2(7): 1-8.
22. Courteix C, Eschalier A, Lavarenne J. Streptozotocin-induced diabetic rats: behavioral evidence for a model of chronic pain. *Pain* 1993; 53(1): 81-8.
23. Zare Z, Eimani H, Mohammadi M. The effect of orally administered L-carnitine on testis tissue, sperm parameters and daily sperm production in adult mice. *Yakhteh Med J* 2010; 11(4): 382-89. (Persian)
24. Abbott FV, Franklin KB, Westbrook RF. The formalin test: scoring properties of the first and second phases of the pain response in rats. *Pain* 1995; 60(1): 91-102.
- 25.Coderre TJ, Melzack R. The contribution of excitatory amino acids to central sensitization and persistent nociception after formalin-induced tissue injury. *J Neurosci* 1992; 12(9): 3665-70.
26. Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, et al. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain* 1992; 51(1): 5-17.
27. Calixto JB, Beirith A, Ferreira J, et al. Naturally occurring antinociceptive substances from plants. *Phytother Res* 2000; 14(6): 401-18.
28. Ferrándiz ML, Alcaraz MJ. Anti-inflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids. *Agents Actions* 1991; 32(3-4): 283-8.
29. Loughton MJ, Evans PJ, Moroney MA, et al. Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclooxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. Relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability. *Biochem Pharmacol* 1991; 42: 1673-81.
30. Capone F, Aloisi AM. Refinement of pain evaluation techniques. The formaline test. *Ann 1st Super Sanita* 2004; 40(2): 223-9.
31. Coderre TJ, Fundytus ME, McKenna JE, et al. The formalin test: a validation of the weighted-scores method of behavioural pain rating. *Pain* 1993; 54(1): 43-50.
32. Barazandeh M. Essential oil composition of *Nepeta menthoides* Boiss et Bushe from Iran. *J Essent Oil Res* 2006; 18: 144-5.
33. Fakhr-Ranjbari H, Sefidkon F, Jamzad Z. Study on chemical composition of 5 species of *Nepeta*. Endemic to Iran. *Proceedings of the 2nd Congress of Medicinal Plants*. Tehran: 2004: 249.
34. Nazemiyeh H, Razavi SM, Asnaashari S, et al. Chemical composition of the essential oil of *Nepeta menthoides* Boiss & Bushe. *Pharm Sci* 2009; 14(4): 283-9.
35. Santos FA, Rao VS. Antiinflammatory and Antinociceptive Effects of 1,8-Cineole, a Terpenoid Oxide Present in many Plant Essential Oils. *Phytother Res* 2000; 14(4): 240-4.
36. McElvain SM, Bright RD, Johnson PR. The Constituents of the Volatile Oil of Catnip. I. Nepetalic Acid, Nepetalactone and Related Compounds. *J Am Chem Soc* 1941; 63(6): 1558-63.

Anti-inflammatory and Anti-nociceptive effects of hydroalcoholic extract of *Nepeta menthoides* on pain in aerial parts in male mice

Asadi Balsin Sharif Abadi S¹, Nasri S^{*1}, Amin Gh², Bidaran S¹

Received: 06/12/2012

Revised: 07/21/2013

Accepted: 10/08/2013

1. Dept. of Biology, Payam Nour University, Tehran, Iran

2. Dept. of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Journal of Jahrom University of Medical Sciences, Vol. 11, No. 3, Fall 2013

J Jahrom Univ Med Sci 2013; 11(3):1-9

Abstract

Introduction:

The application of herbal plants instead of synthetic drugs has been increasing in recent years because of their lower side-effects and high varieties of efficient components. An investigation on anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of hydroalcoholic extract of *Nepeta menthoides* seems to be necessary due to the existence of its components.

Materials and Methods:

This study was done on 224 NMRI male mice weighing 20-25 g. Xylene-induced ear edema and Formalin test were used for demonstrating its anti-inflammatory and anti-nociceptive effects.

Results:

The hydroalcoholic extract had no toxic effect. This study showed that *Nepeta menthoides* aerial parts have anti-inflammatory effect at all doses, particularly at dose of 2800 mg/kg and significantly decreased nociception in chronic phases. The dose of 2800 mg/kg had the most anti-nociceptive effect in chronic phases. Meanwhile, in the immersion test, nociception decreased at a dose of 1400 mg/kg significantly.

Conclusion:

Hydroalcoholic extract of *Nepeta menthoides* has anti-nociceptive and anti-inflammatory effects. These effects might be due to its Nepetalactone and 1,8 cineole components.

Keywords: Analgesics, Plant Extracts, Mice

* Corresponding author, Email: s_nasri1@pnu.ac.ir