

بررسی سازوکار اثر ضد دردی عصاره متانولی مروک در مدل درد فرمالین در موش صحرائی نر

نویسندگان:

آرین خانی^۱، سارا خانی^۲، صفر زارعی^۳، حسن علی عابدی^۴، نجمه صادقی^۵، افسانه رنجبر^{۶*}

۱- دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲- دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

۳- عضو هیات علمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران

۴- دانشیار یار، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران

۵- استاد یار، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سیرجان، سیرجان، ایران

۶- استادیار، بخش فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.19, No.3, Fall 2021

چکیده:

مقدمه: در طب سنتی گزارش‌هایی از اثرات ضددردی گیاه برویز یا مروک با نام علمی *Salvia Macrosiphon* وجود دارد. این مطالعه برای بررسی سازوکار اثر ضد دردی عصاره متانولی گیاه مروک با استفاده از اتروپین (آنتاگونیست گیرنده موسکارینی) و نالوکسان (آنتاگونیست گیرنده اپیوئیدی) طراحی شد.

روش کار: در این مطالعه تجربی از ۶۴ سر نر بالغ از نژاد ویستار با وزن متوسط 180 ± 10 گرم استفاده شد. رت‌ها به طور تصادفی به هشت گروه هشت تایی تقسیم شدند. عصاره متانولی مروک به روش پر کولاسیون تهیه و با دوز ۵۰۰ و ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و سالیسیلات سدیم با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تزریق شد. برای بررسی اثر ضد دردی و سازوکارهای درگیر از آزمون فرمالین در حضور و عدم حضور اتروپین با دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم و نالوکسان با دوز ۱/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که دوز ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه مروک به طور معناداری باعث کاهش درد در آزمون فرمالین می‌شود ($P < 0/05$). همچنین اثر ضد دردی عصاره در حضور اتروپین و نالوکسان کاهش داشت ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: سازوکار اثر ضددردی عصاره متانولی مروک احتمالاً به واسطه گیرنده‌های اپیوئیدی و موسکارینی است.

واژگان کلیدی: درد، عصاره متانولی مروک، سالیسیلات سدیم، اتروپین، نالوکسان

Pars J Med Sci 2021;19(3):22-29

مقدمه:

A دلتا درد نوع حاد و فیبرهای گروه C درد نوع مزمن را منتقل می‌کنند. اطلاعات مربوط به گیرنده‌های درد به نواحی مختلف قشر مغز از جمله قشر حسی-پیکری، شکنج سینگولت و اینسولا منتقل می‌شوند. نواحی قشر سینگولت و اینسولا دارای عملکردهای مشابه سیستم لیمبیک هستند و در پاسخ‌های عاطفی درد نقش مهمی دارند [۱]. با توجه به اهمیتی که درد در زندگی فردی و اجتماعی افراد دارد، تسکین آن از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. معمولاً برای تسکین درد از داروهای سنتتیک همچون

درد حسی هشداردهنده و سازوکاری حفاظتی برای بدن است. درد به دو صورت درد فیزیولوژیک یا حاد و درد پاتولوژیک یا مزمن که شامل درد التهابی و درد نوروپاتی است، طبقه‌بندی می‌شود. درد حاد به طور ناگهانی شروع شده و به تدریج در طی یک فرایند بهبود از شدت آن کم می‌شود. درد مزمن مدت زمان طولانی‌تری ادامه داشته و به داروهای ضد درد رایج همچون مواد مخدر و ضد التهابی‌های غیراستروئیدی مقاوم است. گیرنده درد در انتهای عصبی آزاد قرار دارد و فیبرهای با هدایت به نسبت آهسته گروه

* نویسنده مسئول، نشانی: استادیار، بخش فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران

پست الکترونیک: Ranjbaraf@yahoo.com

تلفن تماس: ۰۹۱۷۷۹۱۴۰۱۰

پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۱۶

اصلاح: ۱۴۰۰/۰۷/۰۵

دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۰۳

در طی این پژوهش رعایت و از شورای اخلاق کد اخلاق (IR.JUMS.REC.1398.079) دریافت شد.

روش تهیه عصاره

نمونه تخم گیاه پس از خشک کردن، آسیاب و پودر آن از الک ۴۰ و ۸۰ رد شد. مقدار ۱۰۰ گرم از پودر آماده شده با ۲۰۰ میلی لیتر متانول ۸۰٪ در دستگاه پرکولاتور به مدت ۷۲ ساعت عصاره گیری شد. در مرحله بعد برای تغلیظ عصاره به کمک دستگاه تقطیر در خلأ و درجه حرارت ۴۰-۳۵ درجه سانتی گراد خشک شد [۱۸].

داروهای مورد نیاز در این پژوهش عبارتند از:

- ۱ - عصاره متانولی با دوزهای ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت تزریق داخل صفاقی.
- ۲ - سالیسیلات سدیم (سیگما) با دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت تزریق داخل صفاقی.
- ۳ - فرمالین ۲/۵ درصد با حجم ۵ میکرولیتر به صورت تزریق زیرجلدی.

۴- اتروپین با دوز ۲ mg/kg و نالوکسان دوز ۱/۶ mg/kg پانزده دقیقه قبل از تزریق عصاره به صورت تزریق داخل صفاقی [۱۹ و ۲۰].

سالیسیلات سدیم و عصاره متانولی در سرم فیزیولوژی تهیه شدند. به منظور بررسی سازوکارهای اثر ضد دردی عصاره متانولی تخم گیاه سالویا از مدل درد فرمالین استفاده شد.

آزمون فرمالین

برای ارزیابی درد مزمن از آزمون فرمالین استفاده شد. این آزمون نخستین بار توسط دوستان در سال ۱۹۷۷ ارائه شده است [۲۱]. در این آزمون حیوان در ظرفی که در سطح زیرین آن آینه ای با زاویه ۴۵ درجه قرار دارد گذاشته می شود. این آینه به طور دقیق وضعیت پای حیوان را نشان می دهد. حیوان قبل از شروع آزمون به مدت حداقل ۲۰ دقیقه در ظرف مشاهده قرار می گیرد تا با آن محیط آشنا شود. داروهای مورد استفاده ۲۰ دقیقه قبل از تزریق فرمالین به صورت داخل صفاقی و بعد از آن ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۲/۵ درصد به صورت زیرجلدی به کف پای راست حیوان بود. پس از تزریق فرمالین، حیوان بلافاصله به ظرف مشاهده برگردانده و رفتارهای آن برای مدت زمان ۶۰ دقیقه ثبت شد. شدت درد بر اساس معیار زیر به چهار درجه تقسیم شد:

صفر: حیوان بدون توجه به تزریق فرمالین می نشیند یا راه می رود. یک: پای حیوان با ظرف تماس داشته، ولی حیوان وزن خود را بیشتر روی پای سالم می اندازد.

اوپیدئیدها و ضدالتهاب‌های غیراستروئیدی استفاده می شود. برخی از این داروها دارای عوارض جانبی زیادی هستند [۲-۴] و از این رو پژوهش‌های زیادی در زمینه یافتن داروهای ضد درد جدید با عوارض جانبی کمتر مطرح است. درد را می توان با تجویز داروهای کاهنده درد درمان کرد، هر چند که همیشه این اقدام ممکن است جواب ندهد. مرفین موثرترین داروی کاهش دهنده درد است که به گیرنده‌های اپیوئیدی متصل می شود. این گیرنده‌ها در مغز میانی، ساقه مغز و طناب نخاعی یافت می شوند. پژوهش‌ها بر روی حیوانات آزمایشگاهی نشان داده است که برخی از بی‌دردی‌های ناشی از استرس توسط نالوکسان که یک آنتاگونیست گیرنده‌های اپیوئیدی است، از بین می رود [۱-۴]. همچنین اپی‌باتیدین که یک آگونیست کولی نرژیک است یک ضد درد غیر اپیوئیدی قوی است که اثرات آن توسط بلوک کننده‌های کولی نرژیک مهار می شود [۱]. در مطالعه انجام شده روی قشر اینسولا نشان داد که کاهش درد نوروپاتییک توسط نورون‌های کولی نرژیک به واسطه گیرنده‌های موسکارینی نوع دو ایجاد می شود [۵].

امروزه عصاره گیاهان به عنوان مواد مهم ضد درد طبیعی مورد توجه قرار دارند. گیاه برویز یا مروک با نام علمی *Salvia Macrosiphon* از تیره نعناع، یکی از گیاهان دارویی منطقه بنارویه است. این گیاه شامل ۹۰۰ گونه است که در ایران فقط ۵۸ گونه از آن می روید [۶-۱۱]. در طب سنتی اثرات دیورتیک، تونیک، آنتی روماتوئید، ضد التهاب [۱۲]، ضد درد [۱۳] و آنتی میکروبیال [۱۴] این گیاه گزارش شده است. همچنین وجود ترکیبات فلاونوئیدها و گلیکوزیدها نیز در این گیاه تایید شده است [۱۵-۱۷]. در میان ترکیبات بیوفلاونوئیدها و گلیکوزیدهای جدا شده از این گیاه می توان به Rutin, Apigenin و Luteolin-7-o-glucoside اشاره کرد که دارای اثرات ضد التهابی و ضد درد هستند [۱۵]، [۱۶]. از آن جایی که تاکنون گزارشی از سازوکارهای مرتبط با اثر ضد دردی گیاه مروک وجود ندارد، مطالعه حاضر به منظور بررسی سازوکارهای اثر ضد دردی عصاره متانولی تخم این گیاه در مدل درد فرمالین در موش صحرایی نر انجام شده است.

روش کار:

در این مطالعه تجربی از ۶۴ سررت نر بالغ از نژاد ویستار با وزن ۱۸۰-۲۷۰ گرم استفاده شد. رت‌ها به طور تصادفی به هشت گروه هشت تایی تقسیم شدند. موش‌ها در قفس‌های ۵ تایی در لانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی جهرم با درجه حرارت ۲۲-۲۰ سانتی گراد و سیکل تاریکی-روشنایی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. آزمایشات در طی ده ماه انجام شد. تمامی موازین اخلاقی

در حضور عصاره با غلظت موثر ضد دردی دریافت کردند. لازم به ذکر است که داروهای اتروپین و نالوکسان پانزده دقیقه قبل از تزریق عصاره به صورت داخل صفاقی به حیوان تزریق شدند.

آزمون آماری

در این پژوهش داده های جمع آوری شده به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و سپس آزمون تعقیبی LSD تحلیل شدند. $P < 0/05$ به عنوان سطح معناداری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها:

در جدول ۱ نتایج اثر ضددردی تزریق داخل صفاقی عصاره متانولی مروک در حضور و عدم حضور نالوکسان و اتروپین در آزمون فرمالین نشان داده شده است. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که فقط دوز ۲۰۰۰ میلی بر کیلوگرم عصاره و سالیسیلات سدیم در مرحله اول (۵ دقیقه نخست) و مرحله دوم (۲۰-۶۰ دقیقه آخر) آزمون فرمالین به طور معناداری باعث کاهش درد در مقایسه با گروه کنترل شد. همچنین اثر ضد دردی عصاره مروک با دوز ۲۰۰۰ میلی بر کیلوگرم در حضور اتروپین و نالوکسان کاهش پیدا کرد (شکل ۱و۲).

دو : حیوان پنجه پای تزریق شده به فرمالین (پای دردناک) را کاملاً از سطح ظرف برمی‌دارد.

سه : حیوان پنجه پای دردناک را به شدت می‌لیسد، گاز می‌گیرد و یا به شدت تکان می‌دهد.

پس از تزریق فرمالین، ثبت پاسخ های رفتاری بلافاصله شروع و در ۱۵ ثانیه به مدت یک ساعت ادامه داشت.

درد حاصل از ۵ دقیقه اول پس از تزریق فرمالین درد حاد و درد در فاصله زمانی ۶۰-۲۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین درد مزمن نامیده می‌شود.

در این پژوهش حیوانات مورد آزمایش به طور تصادفی به هشت گروه هشت تایی به شرح زیر تقسیم شدند:

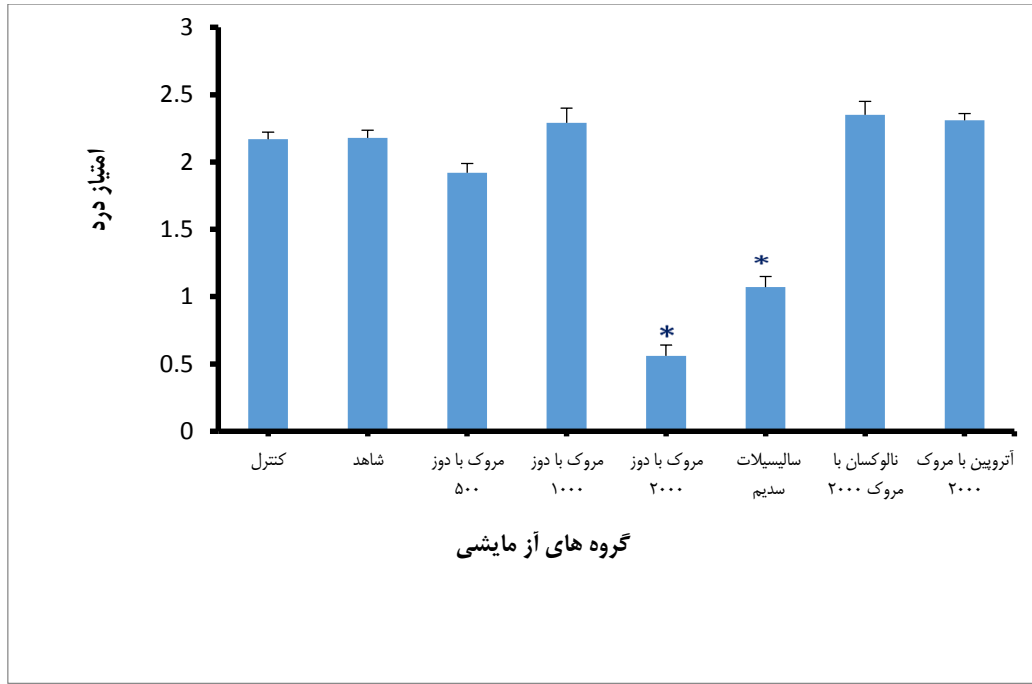
گروه I (گروه کنترل) که به حیوان فقط فرمالین ۲/۵ درصد تزریق شد.

گروه II (گروه شاهد) که حلال داروها و عصاره (سرم فیزیولوژی) به حیوان تزریق و پاسخ های رفتاری در حضور تزریق فرمالین ۲/۵ درصد ثبت شد.

گروه III, IV, V به ترتیب ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره و گروه VI میزان ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سالیسیلات سدیم دریافت کردند و پاسخ های رفتاری آن ها نیز در حضور فرمالین ثبت شد. گروه VII, VIII به ترتیب اتروپین با دوز ۲ میلی گرم بر کیلوگرم و نالوکسان با دوز ۱/۶ میلی گرم بر کیلوگرم

جدول ۱: اثر ضد دردی تزریق داخل صفاقی عصاره متانولی مروک در حضور و عدم حضور نالوکسان و اتروپین در آزمون فرمالین

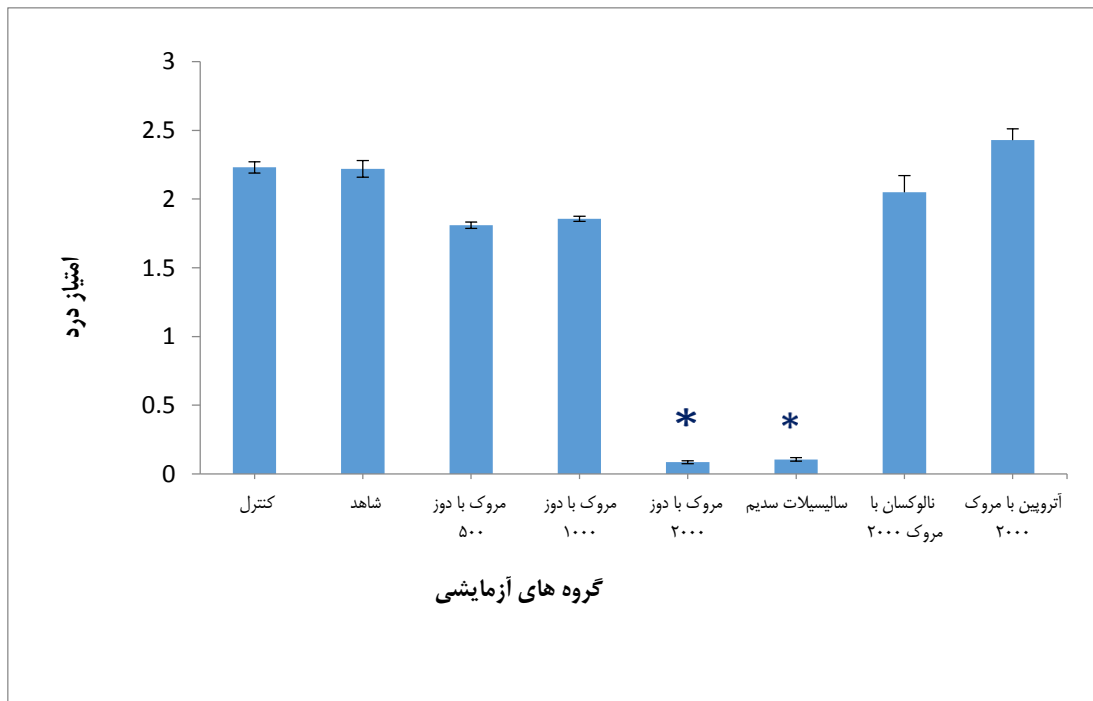
مرحله دوم	مرحله اول	مراحل آزمون فرمالین	
		میانگین و انحراف معیار پاسخ	میانگین و انحراف معیار پاسخ
		گروه آزمایشی	گروه کنترل
			گروه شاهد (تزریق حلال دارو)
			گروه تزریق عصاره مروک با دوز ۵۰۰ mg/Kg
			گروه تزریق عصاره مروک با دوز ۱۰۰۰ mg/Kg
			گروه تزریق عصاره مروک با دوز ۲۰۰۰ mg/Kg
			گروه تزریق سالیسیلات سدیم با دوز ۳۰۰ mg/Kg
			گروه تزریق عصاره با دوز ۲۰۰۰ mg/Kg و نالوکسان با دوز ۱/۶ mg/kg
			گروه تزریق عصاره با دوز ۲۰۰۰ mg/Kg و اتروپین با دوز ۲ mg/kg



شکل ۱: اثرات تجویز داخل صفاقی عصاره متانولی مروک با دوزهای مختلف (۵۰۰ و ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم بر گیلوگرم) و سالیسیلات سدیم با دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، آتروپین با دوز ۲ میلی گرم بر کیلوگرم و نالوکسان با دوز ۱/۶ میلی گرم بر کیلوگرم در مرحله اول آزمون فرمالین در مقایسه با گروه کنترل در موش های صحرائی نر.

نتایج به صورت میانگین \pm خطای معیار نشان داده شده است ($n=8$).

علامت * نشان دهنده وجود اختلاف معنادار آماری است.



شکل ۲: اثرات تجویز داخل صفاقی عصاره متانولی مروک با دوزهای مختلف (۵۰۰ و ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم بر گیلوگرم) و سالیسیلات سدیم با دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، آتروپین با دوز ۲ میلی گرم بر کیلوگرم و نالوکسان با دوز ۱/۶ میلی گرم بر کیلوگرم در مرحله دوم آزمون فرمالین در مقایسه با گروه کنترل در موش های صحرائی نر.

نتایج به صورت میانگین \pm خطای معیار نشان داده شده است ($n=8$).

علامت * نشان دهنده اختلاف معنادار آماری است.

بحث:

در این پژوهش سازوکار اثر ضد درد عصاره متانولی تخم گیاه مروک در آزمون فرمالین مورد بررسی قرار گرفت. آزمون فرمالین یکی از بهترین روش‌ها برای ارزیابی درد و سازوکارهای درگیر آن است. یکی از مهم‌ترین خصوصیت این آزمون وجود دو پاسخ نسبت به محرک دردزا است. پاسخ اول که بلافاصله پس از تزریق فرمالین شروع و ۳ تا ۵ دقیقه ادامه داشته و برای ارزیابی درد حاد استفاده می‌شود و پاسخ دوم که تقریباً ۱۵ تا ۲۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین شروع و برای ۲۰ تا ۴۰ دقیقه ادامه داشته و برای ارزیابی درد مزمن کاربرد دارد [۲۱]. داروهای ضد درد همچون کدئین و مورفین که سیستم عصبی مرکزی را تحت تاثیر قرار می‌دهند دارای اثر ضد درد در هر دو مرحله آزمون فرمالین هستند، اما داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی و کورتیکواستروئیدها فقط دارای اثر مهار در مرحله دوم درد فرمالین می‌باشند. مرحله اول به طور عمده ناشی از تحریک مستقیم گیرنده درد و یا فعال سازی فیبر های نوع C است. مرحله دوم به واکنش های التهابی بافت مربوط می‌شود که ناشی از آزاد سازی هیستامین، سروتونین، برادی کینین و پروستوگلاندین ها است که توسط داروهای ضد التهابی تسکین می‌یابد [۲۱ و ۲۲].

در مطالعات قبلی نشان داده شده که عصاره متانولی تخم مروک با سرکوب سندروم Morphine withdrawal و افزایش آستانه درد دارای اثر ضد درد در آزمون صفحه داغ است [۱۰]. لازم به ذکر است این آزمون برای ارزیابی اثرات ضد درد اپیوئیدها و ترکیباتی است که سیستم اعصاب مرکزی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. از آن جایی که محرک‌های دردزای حرارتی به طور عمده درد سریع یا حاد ایجاد می‌کنند، این عصاره با افزایش آستانه درد در آزمایش صفحه داغ دارای اثر تسکینی روی دردهای حاد و گذار است. در همین راستا، نتایج حاصل از مرحله اول آزمون فرمالین در پژوهش اخیر نیز موید آن است که این عصاره به صورت مرکزی در کاهش درد موثر واقع شده است. این یافته با نتایج مطالعات قبلی هم‌خوان است.

مطالعات انجام شده در رابطه با ترکیبات شیمیایی گیاه مروک بیانگر وجود فلاونوئیدها و گلیکوزیدها در این گیاه است. در میان ترکیبات بیوفلاونوئیدها و گلیکوزیدهای جدا شده از این گیاه می‌توان به Rutin-7-Apigenin, 4'-dimethyl ether, Apigenin-7-O-glucoside و Luteolin-7-o-glucoside اشاره کرد [۱۲، ۳، ۱۵، ۱۶]. این ترکیبات موجب اثر ضد التهابی و ضد درد این گیاه می‌شوند. گزارش‌هایی از کاهش دردهای التهابی بیماری ارتريت روماتوئید توسط روتین دیده می‌شود. همچنین این ماده عمل محافظتی روی نرون‌های حسی دارد [۲۳ و ۲۴]. گزارش‌هایی از اثر Apigenin-7-O-glucoside روی التهاب پوستی وجود دارد

که می‌تواند از طریق تاثیراتی که روی تولید Reactive (ROS) Oxygen Species و رادیکال های آزاد اکسیژن دارد صورت گیرد [۲۴]. با توجه به نقشی که رادیکال‌های آزاد در القای التهاب دارند شاید اثر ضد درد و ضد التهابی عصاره مروک تا حدودی مرتبط با این سازوکارها باشد. به علاوه گزارش شده که Luteolin-7-o-glucoside از طریق مهار تولید پروستوگلاندین E2 می‌تواند فعالیت Anti-asthmatic داشته باشد [۲۵]. از آن جایی که هر ماده‌ای که دارای اثر ضد التهابی باشد دارای اثر ضد درد نیز هست، از این رو اثر ضد درد این عصاره تا حدودی به اثر ضد التهابی آن بر می‌گردد. نتایج حاصل از مرحله دوم آزمون فرمالین در این پژوهش نیز موید این موضوع است که اثر ضد درد این عصاره تا حدودی ناشی از اثر ضد التهاب آن است که با جلوگیری از تشکیل واسطه‌های التهابی همچون پروستوگلاندین ها، برادی کینین، هیستامین و سروتونین باعث کاهش حساسیت گیرنده های درد و مهار درد در موضع می‌شود. در این پژوهش برای تعیین سازوکارهای ضد درد گیاه مروک از نالوکسان (آنتاگونیست گیرنده های اپیوئیدی) و اتروپین (آنتاگونیست گیرنده های موسکارینی) استفاده شد. نتایج مرتبط با تزریق آنتاگونیست های فوق نشان داد که اثر ضد درد عصاره تخم مروک با دوز ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (دوز موثر در کاهش درد) در حضور اتروپین و نالوکسان کاهش می‌یابد که بیانگر نقش احتمالی گیرنده های اپیوئیدی و کولی نرژیک در اثرات ضد درد عصاره تخم گیاه مروک است. پژوهش‌های انجام شده روی حیوانات آزمایشگاهی نشان می‌دهد که برخی از بی‌دردی‌های ناشی از استرس توسط نالوکسان که یک آنتاگونیست گیرنده‌های اپیوئیدی است، از بین می‌رود [۱-۴]. با وجود این، برخی از اشکال بی‌دردی تحت تاثیر نالوکسان قرار نمی‌گیرند و بنابر این اجزای دیگری نیز در بی‌دردی دخالت دارند. در همین راستا، می‌توان به اپی باتیدین که یک آگونیست کولی نرژیک است اشاره کرد. این ترکیب یک ضد درد غیر اپیوئیدی قوی است که اولین بار از پوست نوعی قورباغه جدا شده و اثرات آن توسط بلوک کننده‌های کولی نرژیک مهار می‌شود. این مطالب نشان می‌دهد که در تنظیم درد گیرنده‌های نیکوتینی کولی نرژیک هم نقش دارند [۱]. مطالعه دیگری نقش نوروپاتی‌های کولی نرژیک در قشر اینسولا از طریق گیرنده‌های موسکارینی نوع دو در کاهش درد نوروپاتی نشان داده است [۵]. به طور کلی پژوهش حاضر نشان داد که عصاره متانولی مروک درد حاد و مزمن را کاهش داده و دارای اثر ضد درد مناسب است که می‌تواند به واسطه نقش احتمالی گیرنده‌های اپیوئیدی و موسکارینی باشد.

نتیجه گیری:

اثرات ضددردی عصاره تخم گیاه مروک در هر دو فاز آزمون فرمالین بیانگر عملکرد این عصاره به صورت مرکزی با تاثیرگذاری روی گیرنده‌های اپیوئیدی و همچنین محیطی از طریق تاثیر گذاری بر فرایندهای التهابی صورت گرفته است. این پژوهش نشان داد اثرات ضددردی این عصاره در حضور انتاگونیست‌های گیرنده‌های اپیوئیدی و موسکارینی کاهش داشته که موید نقش احتمالی این دو گیرنده در اثرات ضددردی عصاره می‌باشد.

تشکر و قدردانی:

مقاله حاضر حاصل کار پژوهشی است که در دانشگاه علوم پزشکی جهرم با کد اخلاق IR.JUMS.REC.1398.079 انجام شده است. نویسندگان مقاله از تمامی افرادی شرکت کننده در این پژوهش تشکر و قدردانی می‌کنند.

تعارض و منافع:

هیچ گونه تعارض منافی وجود ندارد.

References:

1. Ganong's. Review of. *Medical Physiology*.chapter10 Twenty-fifth Edition. New York Chicago San Francisco Lisbon London Madrid Mexico City.
2. Roeckel LA, Le Coz GM, Gaveriaux-Ruff C, Simonin F. Opioid-induced hyperalgesia: Cellular and molecular mechanisms. *Neuroscience*. 2016;338:160-82.
3. James MW, Hawkey CJ. Assessment of non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) damage in the human gastrointestinal tract. *British journal of clinical pharmacology*. 2003;56(2):146-55.
4. Nestler EJ. Molecular mechanisms of drug addiction. *Neuropharmacology*. 2004;47 Suppl 1:24-
5. Ferrier J, Bayet-Robert M, Dalmann R, El Guerrab A, Aissouni Y, Graveron-Demilly D, et al. Cholinergic Neurotransmission in the Posterior Insular Cortex Is Altered in Preclinical Models of Neuropathic Pain: Key Role of Muscarinic M2 Receptors in Donepezil-Induced Antinociception. *J Neurosci*. 2015; 35(50):16418-30
6. Kharazian N. A new variety of *Salvia macrosiphon* (Lamiaceae) for Iran. *Pakistan journal of biological sciences : PJBS*. 2008;11(8):1173-5.
7. Yang D, Yang S, Zhang Y, Liu Y, Meng X, Liang Z. Metabolic profiles of three related *Salvia* species. *Fitoterapia*. 2009;80(5):274-8.
8. Raja RR. Medicinally potential plants of Labiateae (Lamiaceae) family: an overview. *Research journal of medicinal plant*. 2012;6(3):203-13.
9. Bakhshi Khaniki G, Moghasssemi E. Morphological & anatomical study of *Salvia macrosiphon* Boiss. *Journal of Herbal Drugs (An International Journal on Medicinal Herbs)*. 2011;1(4):15-24.
10. Karami M, Shamerani MM, Hossini E, Gohari AR, Ebrahimzadeh MA, Nosrati A. Antinociceptive activity and effect of methanol extracts of three *salvia* spp. On withdrawal syndrome in mice. *Advanced pharmaceutical bulletin*. 2013;3(2):457-9.
11. Zargari A. *Plants medicine*. 6nd ed. Tehran University Press. Vol 4. 1998
12. Gonzalez R, Ballester I, Lopez-Posadas R, Suarez MD, Zarzuelo A, Martinez-Augustin O, et al. Effects of flavonoids and other polyphenols on inflammation. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2011;51(4):331-62.
13. Karami M, Shamerani MM, Hossini E, Gohari AR, Ebrahimzadeh MA, Nosrati A. Antinociceptive activity and effect of methanol extracts of three *salvia* spp. On withdrawal syndrome in mice. *Advanced pharmaceutical bulletin*. 2013;3(2):457-9
14. Davachi SM, Sadat Shekarabi A. Preparation and characterization of antibacterial, eco-friendly edible nanocomposite films containing *Salvia macrosiphon* and nanoclay. *Int J of Bio Macromolecules* 113 (2018) 66–72.
15. Matloubi Moghddam F, Moridi Farimani M, Taheri S, Tafazoli M, Amin G. Chemical constituents from *Salvia macrosiphon*. *Chemistry of natural compounds*. 2008;44(4):9-18:(
16. Gohari AR, Ebrahimi H, Saeidnia S, Foruzani M, Ebrahimi P, Ajani Y. Flavones and Flavone Glycosides from *Salvia macrosiphon* Boiss. *Iranian journal of pharmaceutical research : IJPR*. 2011;10(2):247-51.
17. Nijveldt RJ, Van Nood E, Van Hoorn DE, Boelens PG, Van Norren K, Van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American journal of clinical nutrition*. 2001;74(4):418-25
18. Gupta A, Naraniwal M, Kothari V. Modern extraction methods for preparation of bioactive plants extracts. *Int J Appl Nat Sci* 2012; 1: 8-26.
19. Ghaemi-Jandabi M, Azizi H, Ahmadi-Soleimani SM, Semnani S. Intracoeular microinjection of orexin-A induces morphine withdrawal-like signs in rats. *Brain Res Bulletin*. 2017;130: 107–11.
20. Hossaini D, Alami K, Nazari M, Ebrahimi K, Salehi M, Mousavi S, Effect of Afghan *Ferula assa-foetida* L. oleo Gum Resin Aqueous Extract on Withdrawal Signs in Morphine-Dependent Rats. 2021; 12: 2146-8397
21. 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. *Pain*. 1977;4(2):161-74.

22. khani A, Ranjbar A. The analgesic effect of curcuma Longa rizome metanol extract in Male Rat. Pars J Med Sci . 2018; 16 (1) :41-48
23. Kamalakkannan N, Prince PSM. Antihyperglycaemic and antioxidant effect of rutin, a polyphenolic flavonoid, in streptozotocin- induced diabetic wistar rats. Basic & clinical pharmacology & toxicology. 2006;98(1):97-103
24. Fuchs J, Milbradt R. Skin anti-inflammatory activity of apigenin-7-glucoside in rats. Arzneimittel-Forschung. 1993;43(3):370-2.
25. Jin M, Yang JH, Lee E, Lu Y, Kwon S, Son KH, et al. Antiasthmatic activity of luteolin-7-O-glucoside from *Ailanthus altissima* through the downregulation of T helper 2 cytokine expression and inhibition of prostaglandin E2 production in an ovalbumin-induced asthma model. Biological & pharmaceutical bulletin. 2009;32(9):1500-3.

The mechanism of analgesic effect of *Salvia macrosiphon* methanol extract in formalin model in male rat

Aryan Khani¹, Sara Khani², Safar Zarei³, Hassanali Abedi⁴, Najmeh Sadaghi⁵
Afsaneh Ranjbar^{6*}

Received: 2021.06.24

Revised: 2021.09.27

Accepted: 2021.11.07

1. Medical student, Tehran university of medical science, Tehran, Iran
2. Medical student, Shiraz university of medical science, Shiraz, Iran
3. Dep of physiology, Jahrom university of medical science, Jahrom, Iran
4. Dep of physiology, Jahrom university of medical science, Jahrom, Iran
5. School of medical Sciences, Sirjan, Iran
6. Dep of physiology, Jahrom university of medical science, Jahrom, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.19, No.3, Fall 2021

Pars J Med Sci 2021;19(3):22-29

Abstract:

Introduction:

There are several reports on the analgesic effects of *Salvia macrosiphon* in traditional medicine. In this study, the effects of *Salvia macrosiphon* methanol extract on pain in the presence and absence of atropine (muscarinic receptor antagonist) and naloxone (opioid receptor antagonist) were investigated.

Methods and Materials:

In this experimental study, sixty-eight mature male Wistar rats with an average weight of 180 ± 10 g were randomly divided into eight groups of eight each. The methanol extract of *Salvia macrosiphon* was prepared using the percolation method. Various doses of extract (500/1000/2000 mg/kg i.p.) and sodium salicylate (300 mg/kg i.p.) were injected. The analgesic activity was assessed using the formalin test in the presence and absence of atropine (2 mg/kg i.p.) and naloxone (1.6 mg/kg i.p.).

Results:

Dose 2000 mg/kg i.p. of *Salvia macrosiphon* methanol extract and sodium salicylate had an analgesic effect greater than the control group in the formalin test ($P < 0.05$). Also, the analgesic effect of this extract was decreased by atropine and naloxone ($P < 0.05$).

Conclusion:

These findings suggest that *Salvia macrosiphon* methanol extract induces its inhibitory effect on pain that may be via muscarinic and opioid receptors.

Keywords: *Salvia Macrosiphon* Extract- Pain- Sodium Salicylate, Atropine, Naloxone

* Corresponding author Email: Ranjbaraf@yahoo.com