Quarterly of the Horizon of Medical Sciences
Volume 21, Issue 2, Summer 2015
Pages: 121-128
Type: Original Research

Analgesic and Anti-Inflammatory Effects of Hydroalcoholic Extract of *Salvia multicaulis* on Male Rats

Abdolmaleki A.[1] *MSc*, Fereidoni M.* *PhD*, Farhadi Moghadam B.[1] *MSc*, Asgari A.[2] *MSc*

*Biology Department, Sciences Faculty, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
[1]Biology Department, Sciences Faculty, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
[2]Agronomy Department, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Abstract

Aims: One of the most basic methods for coping with diseases and pain relief had been the use of medicinal plants. The aim of this study was to the determination of analgesic and anti-inflammatory effects of *Salvia multicaulis* hydroalcoholic extract.

Materials & Methods: In this experimental study, 42 male Wistar rats were divided in 6 groups (n=7); the control (receive nothing), the sham (receive solvent intraperitoneally) and 4 groups that received plant extract at the doses of 50, 100, 200 and 400mg/kg intraperitoneally. Tail flick and formalin test were used for evaluation of thermal and chemical pain, also for assessment the degree of inflammation, rat paw edema volume was acquired by plethysmometric test. Data were analyzed in SPSS 16 software by ANOVA with repeated measuring and T student tests.

Findings: The intraperitoneally injection of extract in all doses decreased the chemical pain induced by formalin ($p<0.05$). Hydroalcoholic extract of plant at doses 200 and 400mg/kg caused hyperalgesia in compared with control group ($p<0.01$). All concentrations of hydroalcoholic extract of plant decreased the inflammation ($p<0.01$).

Conclusion: Intraperitoneally administration of hydroalcoholic extract of *Salvia multicaulis* has analgesic effects.

Keywords
Rats [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68051381];
Inflammation [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68007249];
Pain [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68010146];
Analgesics [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68000700]

*Corresponding Author
Tel: +985136214026
Fax: +985138762227
Address: Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Vakilabad Highway, Mashhad, Iran. Postal Code: 9177948974
fereidoni@um.ac.ir
Received: January 18, 2015 Accepted: May 3, 2015 ePublished: June 20, 2015

اثرات ضددردی و ضدالتهابی عصاره هیدروالکلی مریم‌گلی ارغوانی در موش‌های صحرایی نر

آرش عبدالملکی MSc
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
مسعود فریدونی* PhD
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
بهرام فرهادی‌مقدم MSc
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
اشکان عسگری MSc
گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

چکیده

اهداف: یکی از ابتدایی‌ترین روش‌ها برای مقابله با بیماری‌ها و تسکین درد استفاده از گیاهان دارویی بوده است. هدف از مطالعه حاضر، تعیین اثرات ضددردی و ضدالتهابی عصاره هیدروالکلی مریم‌گلی ارغوانی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی از ۴۲ موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار استفاده شد. حیوانات در ۶ گروه ۷تایی؛ کنترل (بدون دریافت هیچ ماده‌ای)، شم (تجویز درون‌صفاقی حلال) و گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره به‌صورت درون‌صفاقی، قرار گرفتند. درد حرارتی و شیمیایی به ترتیب با آزمون پس‌کشیدن دم و آزمون فرمالین، ارزیابی شد. همچنین برای بررسی میزان التهاب، حجم ادم ناشی از التهاب پا به‌روش پلتیسموتری سنجش شد. تحلیل داده‌ها در نرم‌افزار SPSS 16 با کمک آزمون آنالیز واریانس با اندازه‌گیری تکراری و آزمون T دانشجو انجام شد.

یافته‌ها: در گروه‌های تجربی، تزریق درون‌صفاقی عصاره در همه دوزها سبب کاهش درد القاشده با فرمالین شد ($p<0/05$). عصاره هیدروالکلی گیاه سبب ایجاد پردردی در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل شد ($p<0/01$). تمامی غلظت‌های عصاره هیدرو-الکلی گیاه سبب کاهش التهاب شدند ($p<0/01$).

نتیجه‌گیری: تجویز درون‌صفاقی عصاره هیدروالکلی مریم‌گلی ارغوانی دارای اثرات ضددردی است.

کلیدواژه‌ها: موش صحرایی، التهاب، درد، ضددرد، بررسی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۲۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۲/۱۳
*نویسنده مسئول: fereidoni@um.ac.ir

مقدمه

درد تجربه حسی و روحی ناخوشایندی است که اغلب به‌علت محرک شدید یا آسیب‌رسان ایجاد می‌شود. درد مانند سایر حواس در حفاظت و آگاه‌سازی موجود از آسیب‌هایی که نیازمند پرهیز یا درمان آنهاست دخالت دارد، یا تجربه حسی ناخوشایند همراه با آسیب بافتی است. همچنین درد مکانیزمی حفاظتی است و هنگامی که هر بافتی دچار آسیب می‌شود، به‌وجود می‌آید و موجب می‌شود که شخص از خود واکنش نشان داده و محرک دردزا را از میان بردارد [۱، ۲]. التهاب، فرآیندی همراه با افزایش نفوذپذیری مویرگ‌ها به پروتئین‌های پلاسما و مهاجرت لکوسیت‌ها در محل آسیب بافتی است [۳] و هدف از بروز پاسخ التهاب، حذف عوامل آسیب‌رسان و ترمیم بافت‌های آسیب‌دیده است. مصرف داروهای غیراستروئیدی ضدالتهابی متداول‌ترین روش برای تسکین موقتی علایم التهاب است. اما مصرف مداوم آنها برای درمان التهاب مزمن با عوارض جانبی شدیدی همراه است [۴].

با توجه به عوارض زیاد ناشی از مصرف داروهای شیمیایی، امروزه توجه زیادی به جایگزینی این داروها می‌شود. گیاهان دارویی به‌علت وجود مواد موثر طبیعی و همراه‌بودن این مواد موثره با مواد دیگر تعادل بیولوژیک ایجاد کرده و از انباشته‌شدن مواد دارویی در بدن جلوگیری می‌کنند. عوارض جانبی کم یا فقدان عوارض جانبی داروهای با منشاء گیاهی در دهه‌های اخیر توجه جهانیان و محققان را به این داروها جلب کرده است و یکی از هدف‌های محققان دست‌یافتن به داروهای گیاهی موثر برای درمان درد و التهاب است که عوارض جانبی نداشته باشد [۵].

از طرفی، گیاهان مخزن وسیعی از ترکیبات بیولوژیک فعال مانند مواد ضددردی، ضدالتهابی، ضددیابتی، ضدسرطانی، آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی هستند. این خواص بیشتر به متابولیت‌های ثانویه از جمله پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، کاروتنوئیدها، کومارین‌ها و کورکومین‌ها مرتبط است که به‌وسیله تکنیک‌های مدرن تجزیه‌ای نیز تایید شده‌اند [۶]. *امیری* در پژوهش خود، مواد تشکیل‌دهنده اسانس و عصاره گیاه مریم‌گلی ارغوانی (*سالویا مولتی‌کولیس*) را بررسی کرد و نشان داد که بورنئول، بورنیل‌استات، کامفور و کامفن ترکیبات اصلی روغن اسانسی این گونه هستند که نشان می‌دهد مهم‌ترین بخش این اسانس را ترکیبات مونوترپنی تشکیل می‌دهند. همچنین بیشترین ترکیب موجود در عصاره گیاه، پلی‌فنول‌ها و فلاونوئیدها هستند. بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه نیز نشان داد که اسانس و عصاره آن دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بوده، اما اثر عصاره گیاه در حذف رادیکال‌های آزاد از اسانس بیشتر است [۷].

عیدی و همکاران، اثرات ضددردی گونه دیگری از جنس سالویا به‌نام *سالویا هیپولوکا* را روی موش‌های آزمایشگاهی نر کوچک بررسی کردند. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که عصاره برگ *سالویا هیپولوکا* دارای خصوصیات ضددردی در هر دو مرحله اولیه و ثانویه درد است، به‌طوری که عصاره برگ گیاه در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش معنی‌دار در پاسخ‌های ظاهرشده در فاز اولیه درد القایی توسط آزمون فرمالین شد. همچنین عصاره توانست همانند مورفین فاز اولیه درد

القاشده توسط آزمون فرمالین را به‌صورت معنی‌دار کاهش دهد. در مرحله ثانویه درد نیز غلظت‌های مختلف عصاره به‌صورت وابسته به دوز سبب کاهش درد القاشده توسط آزمون فرمالین شد [۸].

در پژوهشی که توسط *عزیزی* و همکاران انجام شد، مواد تشکیل‌دهنده اسانس و عصاره مریم‌گلی ارغوانی شناسایی شده و اثرات ضدباکتریایی آن بررسی شد. طبق نتایج این پژوهش، فعالیت ضدباکتریایی اسانس گیاه علیه باکتری *ترانسلوسنس پی‌وی. سرالیس زانتوموناس* (*translucens pv. Cerealis xanthomonas*) می‌تواند به کامفور، سینئول، توجن و مشتقات بورنئول نسبت داده شود [۹]. در سال‌های اخیر همچنین گزارش شده است که اسانس مریم‌گلی، به‌خصوص برخی از ترکیبات موجود در آن از جمله سینئول، توجن و کامفور دارای خاصیت ضدمیکروبی و ضدسرطان است [۱۰، ۱۱].

جنس سالویا متعلق به تیره نعناع بوده و شامل گیاهان علفی و بوته‌ای است که به‌طور وسیعی به‌ویژه در مناطق معتدل و گرم زمین توزیع شده‌اند. گونه‌های متعددی از این جنس به‌عنوان گیاهان معطر و زینتی یا به‌خاطر فعالیت‌های زیستی آنها مورد استفاده قرار می‌گیرند. این جنس در ایران ۵۸ گونه گیاه علفی یک‌ساله یا چندساله دارد که در سرتاسر ایران پراکنده‌اند [۱۲] و به‌عنوان گیاه مریم‌گلی ارغوانی مشهور هستند. عصاره یا اسانس این گیاه در سراسر دنیا به‌عنوان مواد طعم‌دهنده و معطر شناخته شده است و در صنایع مختلفی از جمله صنایع غذایی، دارویی و آرایشی کاربرد دارد. بعضی از ترکیب‌های شیمیایی مثل مونوترپن، سزکوئی‌ترپن، بورنئول، کامفور، پلی‌فنول‌ها و فلانوئیدها از عصاره این گیاه استخراج می‌شود [۱۵-۱۳]. جوشانده این گیاه در میان مردم بومی در تسکین درد و التهاب مورد استفاده قرار می‌گیرد.

هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثرات ضددردی و ضدالتهابی عصاره هیدروالکلی گیاه مریم‌گلی ارغوانی (*سالویا مولتی‌کولیس*) روی موش‌های صحرایی بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، از موش‌های صحرایی با سن تقریبی ۲ ماه در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰گرم استفاده شد. تمامی حیوانات در شرایط یکسان محیطی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲۲±۲°C نگهداری شدند و محدودیتی از نظر دسترسی به آب و غذا نداشتند. تکثیر و پرورش حیوانات در حیوان‌خانه و انجام کلیه آزمایش‌ها در آزمایشگاه تحقیقاتی فیزیولوژی جانوری دانشگاه فردوسی مشهد و مطابق دستورالعمل اخلاقی موجود در خصوص کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد [۱۶].

تهیه گیاه و عصاره‌گیری: گیاه مریم‌گلی ارغوانی از ارتفاعات پرآو کرمانشاه و نوواکوه اسلام‌آباد جمع‌آوری شد و مورد تایید هرباریوم دانشگاه فردوسی مشهد قرار گرفت (شماره شناسایی و نگهداری در هرباریوم: ۶۷۵). ابتدا گلبرگ‌های گیاه جدا شده و به‌مدت ۱۰ روز در جای خشک با حرارت و رطوبت ثابت و در تاریکی، خشک شد. سپس با روش عصاره‌گیری با اتانول۷۰٪، عصاره‌گیری انجام شد. به‌طور خلاصه، برگ‌های خشک‌شده درون هاون، خرد و تا حد امکان پودر شد. سپس درون بشر ریخته شده و به آن اتانول۷۰٪ اضافه شد. به دور آن ورقه آلومینیومی پیچیده شد و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. پس از آن، با کاغذ صافی عصاره، جدا و حلال عصاره زدوده شد و پس از تغلیظ در ظروف تیره نگهداری شد. عصاره غلیظ، رطوبت‌سنجی شد و برای غلظت‌سازی و دوزبندی مورد استفاده قرار گرفت. همچنین برای اطمینان از ایمن‌بودن دوزهای مورد استفاده، ابتدا سمیت عصاره مورد نظر توسط تجویز غلظت‌های مختلف تعیین شد. به‌منظور تعیین دوز کشنده، تعداد ۴۰ حیوان در چهار گروه (هر گروه شامل ۱۰ حیوان) قرار گرفتند و با عصاره گیاه در دوزهای ۴۰۰۰، ۶۰۰۰، ۷۰۰۰ و ۸۰۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت درون‌صفاقی تیمار شدند. میزان مرگ‌ومیر حیوانات تا ۷۲ ساعت پس از تزریق شمارش شد و LD_{50} (میزان دوز کشنده) برابر با ۷۳۵۶میلی‌گرم بر کیلوگرم برای عصاره گیاه تعیین شد.

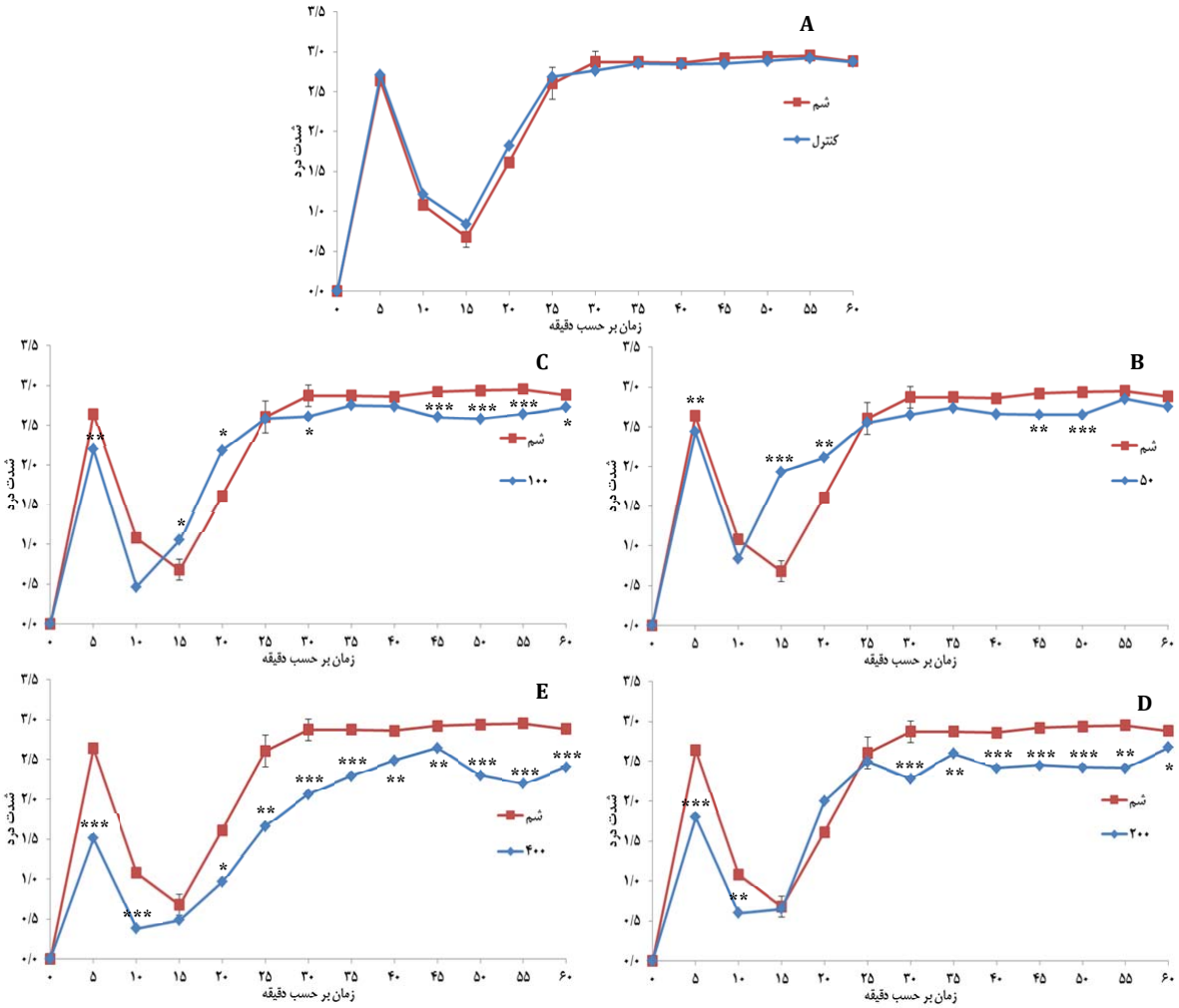
گروه‌بندی حیوانات: برای انجام آزمایش‌ها، ۴۲ حیوان به‌طور تصادفی در ۶ گروه ۷تایی به ترتیب شامل؛ گروه کنترل (هیچ ماده‌ای دریافت نکردند)، گروه شم (تجویز درون‌صفاقی حلال شامل ترکیب اتانول، توئین۸۰ و سالین به نسبت ۸:۱:۱) و چهار گروه دریافت‌کننده دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره مریم‌گلی ارغوانی به‌صورت درون‌صفاقی، قرار گرفتند. تمامی مطالعات رفتاری در محدوده زمانی ساعت ۱۴-۹ انجام شد.

سنجش درد شیمیایی: برای سنجش درد شیمیایی از آزمون فرمالین استفاده شد [۱۷، ۱۸]. در این آزمون تزریق زیرپوستی محلول فرمالین به کف پای عقبی موش صحرایی سبب ایجاد دو مرحله مشخص در رفتار درد می‌شود؛ مرحله اول پاسخ که شامل ۵ دقیقه اولیه پس از تزریق فرمالین (فاز نوروژنیک) است و مرحله ثانویه پاسخ که از دقیقه ۱۱ شروع شده و گاهی تا ۶۰ دقیقه طول می‌کشد (فاز التهابی) و با سه رفتار مشخص؛ لنگیدن، بالابردن پا و لیسیدن یا گازگرفتن پا همراه است. بین مراحل اول و دوم، یک مرحله اینترفاز خاموش وجود دارد که از دقیقه ۶ تا دقیقه ۱۰ و گاهی تا دقیقه ۲۰ طول می‌کشد و رفتار درد کمی طی آن مشاهده می‌شود. این دو مرحله نشان‌دهنده دو نوع مختلف درد هستند. مرحله اول دردی است که توسط تحریک شیمیایی مستقیم اعصاب آوران C توسط فرمالین ایجاد شده است و مرحله دوم، درد القاشده توسط واکنش التهابی در بافت‌های محیطی است [۱۹]. برای انجام مطالعه، میزان ۰/۰۵میلی‌لیتر از محلول فرمالین۲/۵٪ به‌صورت زیرجلدی به کف پای عقبی حیوان تزریق شد و رفتار حیوان به‌مدت یک ساعت مورد بررسی قرار گرفت. درجه درد در هر ۱۵ ثانیه ثبت

شد. سپس میانگین درجه‌های درد در هر ۵ دقیقه محاسبه شد. درجه‌بندی درد در این آزمون به‌صورت زیر بود: عدد صفر برای وقتی که حیوان دردی ندارد و کف پا روی زمین است، عدد یک برای وقتی که حیوان فقط پنجه پا را روی زمین می‌گذارد، عدد ۲ برای وقتی که حیوان پا را کاملاً بالا می‌گیرد و عدد ۳ برای وقتی است که حیوان پا را لیس می‌زند یا گاز می‌گیرد [۱۷].

سنجش درد حرارتی: برای سنجش درد حرارتی از آزمون "پس‌کشیدن دم" استفاده شد [۲۰]. در این آزمون شدت تابش نور دستگاه به یک‌سوم میانی دم جانور به‌گونه‌ای تنظیم شد که متوسط زمان پس‌کشیدن دم پس از اعمال نور بین ۴ تا ۶ ثانیه باشد. برای جلوگیری از آسیب بافتی، تابش نور پس از ۱۵ ثانیه قطع می‌شد (زمان قطع تابش نور). این آزمون سه مرتبه و به‌فاصله زمانی یک دقیقه در ناحیه یک‌سوم میانی دم انجام شد و میانگین داده‌ها برای زمان پس‌کشیدن دم به‌عنوان آستانه زمانی در بروز درد (زمان تاخیری پس‌کشیدن دم) برای هر حیوان مد نظر قرار گرفت. برای مقایسه بین گروه‌ها، نتایج به‌صورت درصد حداکثر اثر ممکن (MPE%) بیان شد.

سنجش میزان التهاب: برای سنجش میزان التهاب، از اندازه‌گیری حجم ادم پا ناشی از التهاب استفاده شد. ابتدا حجم اولیه پای حیوان به‌روش پلتیسموموتری دیجیتالی اندازه‌گیری شد. در این روش پای حیوان تا ناحیه مچ، که توسط ماژیک علامت‌گذاری شده بود، به درون ستون جیوه‌ای که روی ترازوی دیجیتالی قرار گرفته، فرو برده شد و عدد ترازو ثبت شد. سپس با گذشت زمان ۳۰ دقیقه از هر تجویز صفاقی، برای القای التهاب، حجم ۰/۰۵سی‌سی فرمالین۲/۵٪ به‌صورت زیرجلدی به کف پای حیوان تزریق شد. از آنجا که بعد از گذشت ۶۰ دقیقه از تزریق فرمالین، میزان التهاب ایجادشده به حداکثر می‌رسد، حجم ثانویه پا نیز پس از گذشت این زمان با روش پلتیسموموتری اندازه‌گیری شد و حجم ادم القاشده توسط فرمالین با استفاده از فرمول محاسباتی "حجم اولیه پا− حجم ثانویه پا" تقسیم بر "۱۳/۶(جرم حجمی جیوه)" محاسبه شد [۲۱].



نمودار ۱) مقایسه شدت درد شیمیایی بین گروه کنترل با شم (A)، دوز ۵۰میلی‌گرم بر کیلوگرم (B)، دوز ۱۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم (C)، دوز ۲۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم (D) و دوز ۴۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم (E) عصاره هیدروالکلی مریم‌گلی ارغوانی طی آزمون فرمالین (*p<۰/۰۵، **p<۰/۰۱ و ***p<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه شم)

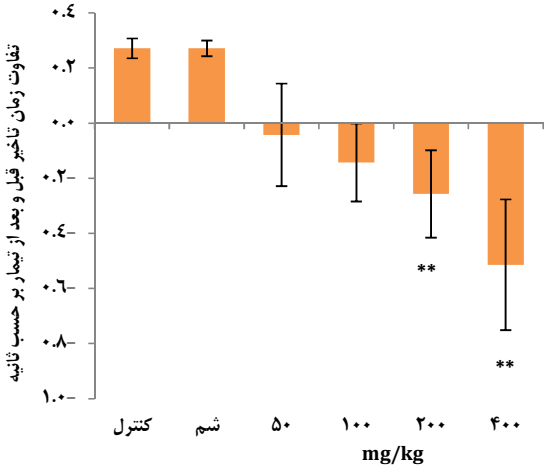
آنالیز آماری: برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 16، به‌منظور تحلیل واریانس‌ها از آنالیز واریانس با اندازه‌گیری تکراری، برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون Tدانشجو و برای محاسبه LD_{50} از ارزیابی پروبیت استفاده شد. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ به‌عنوان مرز استنتاج آماری قرار داده شد.

یافته‌ها

میزان LD_{50} پس از ۷۲ ساعت تجویز درون‌صفاقی، ۷۳۵۶میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تعیین شد.

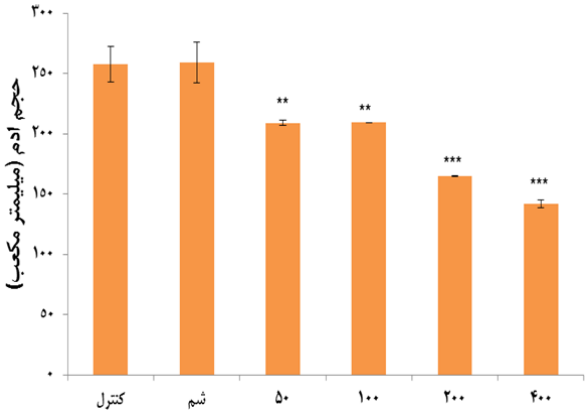
شدت درد شیمیایی در گروه‌های کنترل و شم تفاوت معنی‌داری نشان نداد. از طرفی، تجویز درون‌صفاقی دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی مریم‌گلی ارغوانی در مقایسه با گروه شم سبب کاهش شدت درد شیمیایی ناشی از تزریق کف پایی فرمالین در هر دو مرحله اول (نوروژنیک) و دوم (التهابی) آزمون فرمالین شد ($p<۰/۰۵$؛ نمودار ۱).

شدت درد حرارتی نیز در گروه‌های کنترل و شم تفاوت معنی‌داری نداشت. بررسی نتایج حاصل از سنجش آستانه درد حرارتی توسط آزمون پس‌کشیدن دم نشان داد که تجویز درون‌صفاقی دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی مریم‌گلی ارغوانی سبب ایجاد پردردی نسبت به گروه کنترل شد ($p<۰/۰۱$؛ نمودار ۲).



نمودار ۲) مقایسه سنجش آستانه درد حرارتی طی آزمون پس‌کشیدن دم در گروه‌های کنترل، شم و دریافت‌کننده دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی مریم‌گلی ارغوانی (**$p<۰/۰۱$ در مقایسه با گروه شم)

نتایج حاصل از اندازه‌گیری تغییرات حجم پا ناشی از تزریق کف پایی فرمالین در میان گروه‌های کنترل و شم نشان‌دهنده عدم تاثیرگذاری حلال بر میزان ادم پا و عدم اختلاف معنی‌دار میان این دو گروه بود. در مقایسه اثر دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه با گروه کنترل مشخص شد که تجویز درون‌صفاقی تمامی دوزهای گیاه منجر به کاهش معنی‌داری در حجم ادم التهابی پا شد ($p<۰/۰۱$). همچنین میزان التهاب در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل با افزایش دوز نسبت معکوس داشت (نمودار ۳).



نمودار ۳) مقایسه تغییرات حجم پا ناشی از تزریق کف پایی فرمالین میان گروه‌های کنترل، شم و دریافت‌کننده دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی مریم‌گلی ارغوانی (**$p<۰/۰۱$ و ***$p<۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه شم)

مقایسه تغییرات حجم پا ناشی از تزریق کف‌پایی فرمالین بین گروه‌های دریافت‌کننده دوز ۵۰ و ۱۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار میان این گروه‌ها بود، در حالی که بین سایر دوزها با یکدیگر اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). همچنین نتایج حاصل از سنجش آستانه درد حرارتی توسط آزمون پس‌کشیدن دم نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های دریافت‌کننده دوز ۴۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم با دوز ۵۰میلی‌گرم بر کیلوگرم بود ($p<۰/۰۵$). در سایر غلظت‌ها اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها مشاهده نشد.

بحث

در این تحقیق ابتدا سمیت عصاره مورد نظر برای اطمینان از ایمن‌بودن دوزهای مورد استفاده در تحقیق تعیین شد و بر این اساس گیاه مورد نظر دارای اثرات سمیت بسیار ناچیزی بوده و دوزهای موثر در تسکین درد دوزهای بی‌خطری به‌شمار می‌روند. نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که تجویز درون‌صفاقی دوزهای عصاره هیدروالکلی مریم‌گلی ارغوانی دارای اثرات ضددردی طی آزمون فرمالین در هر دو مرحله اول و دوم آزمون بود. در بررسی فیتوشیمیایی عصاره مریم‌گلی ارغوانی، مهم‌ترین ترکیبات شناخته‌شده شامل ترکیب‌های مونوترپن، سزکوئی‌ترپن، بورنئول، کامفور، پلی‌فنول‌ها و فلانوئیدها است [۷]. همچنین عصاره و اسانس گیاه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی است که به‌احتمال زیاد به‌علت وجود پلی‌فنول‌ها و فلاونوئیدها در عصاره گیاه است

[۷]. مطالعات نشان داده است که اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره و اسانس این گیاه از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مثل BHT (بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن)، آسکوربیک‌اسید و کورکومین بیشتر است [۲۲]. ترکیبات شیمیایی فراوانی از گیاهان که دارای خصوصیات آنالژزیک هستند شناخته شده است. مطالعات فارمالوژیکی، فعالیت آنالژزیک تعداد فراوانی از آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، فلاونوئیدها و لاکتون‌ها را اثبات نموده است [۸].

گیاهان دارویی از ابتدایی‌ترین روش‌ها برای مقابله با بیماری‌ها و تسکین درد بوده‌اند [۲۳]. عقیده بر این است که اغلب ترکیبات طبیعی و به‌خصوص گیاهان طبی می‌توانند منبع یافتن ترکیبات جدید باشند، به‌دلیل اینکه برخی ترکیبات مشهور دارویی فعلی مثل آسپیرین، آتروپین، مورفین و کوکائین از گیاهانی که به‌عنوان ضددرد استفاده می‌شده‌اند به‌دست آمده است [۲۴]. مصرف مواد شیمیایی و گیاهی یکی از روش‌هایی است که در کنترل درد قدمتی کهن دارد [۲۵]. وجود عوارض جانبی کم یا نداشتن عوارض جانبی، علت برتری قابل ملاحظه گیاهان دارویی نسبت به داروهای شیمیایی ضددرد است [۲۶].

یکی از ترکیبات فراوان در گیاهان با خاصیت ضددردی فلاونوئیدها هستند. فلاونوئیدها ترکیبات پلی‌فنول طبیعی موجود در گیاهان هستند که دارای خواص ضددردی و ضدالتهابی هستند [۲۷]. فلاونوئیدها می‌توانند از سد خونی- مغزی عبور کنند و به‌واسطه مکانیزم‌های مختلفی از جمله اثر بر گیرنده‌های $GABA_A$، اپیوئیدی، آلفا دو آدرنرژیک و مهار آنزیم‌های درگیر در التهاب در مغز، درد را به‌صورت مرکزی کنترل کنند. در نواحی مختلف سیستم عصبی از جمله در ناحیه نوکی شکمی جانبی بصل‌النخاع که هسته پاراژیگانتوسلولاریس نیز بخشی از آن است وجود گیرنده‌های اپیوئیدی، آلفا دو آدرنرژیک و $GABA_A$، گزارش شده است. تحریک این گیرنده‌ها موجب بی‌دردی می‌شود. فلاونوئیدها با مهار سیکلواکسیژناز در بافت ملتهب، مانع از تشکیل پروستاگلاندین‌ها می‌شوند. پروستاگلاندین‌ها سبب تحریک رسپتورهای درد می‌شوند. گیاهان حاوی فلاونوئید بسیاری از آثار خود را با مهار آنزیم سیکلواکسیژناز اعمال می‌کنند [۲۸].

فلاونوئیدها یکی از مهارکننده‌های آنزیم سنتزکننده نیتریک‌اکساید به‌شمار می‌روند. با توجه به حضور فلاونوئیدها در عصاره مریم‌گلی ارغوانی احتمالاً می‌توان پیشنهاد کرد که اثرات ضددردی آن می‌تواند به‌علت مهار آنزیم‌های سنتزکننده نیتریک‌اکساید باشد که مانع تولید نیتریک‌اکساید می‌شوند که به‌دنبال تزریق فرمالین افزایش می‌یابد. از آنجا که نیتریک‌اکساید میانجی پردردی است، بنابراین کاهش آن منجر به فعالیت ضددردی می‌شود. همچنین بخشی از فعالیت ضددردی و ضدالتهابی عصاره می‌تواند به‌علت نقش فلاونوئیدها در مهار آنزیم سیکلواکسیژناز باشد [۲۸].

سایر مطالعات نشان می‌دهند که فلاونوئیدها با مهار فعالیت گیرنده‌های N- متیل- D-آسپارتات سبب کاهش کلسیم داخل سلولی می‌شوند و به‌دنبال آن فعالیت آنزیم سنتزکننده نیتریک‌اکساید و فسفولیپاز$A2$ وابسته به کلسیم کاهش می‌یابد و در نتیجه با کاهش نیتریک‌اکساید و پروستاگلاندین‌ها اثرات ضددردی خود را نشان می‌دهند. مهار فعالیت آنزیم فسفولیپاز $A2$ باعث مهار تبدیل اسیدفسفوتیدیک به اسیدآراشیدونیک می‌شود و در نتیجه سنتز پروستاگلاندین‌ها مهار می‌شود [۲۹]. با توجه به شواهد موجود، فلاونوئیدها با مهار فاکتور نکروزکننده تومور (TNF) و مهار آنزیم سیکلواکسیژناز، تولید پروستاگلاندین (E) را از اسیدآراشیدونیک در پاسخ به محرک‌های التهابی مهار می‌کنند [۲۷، ۳۰]. از ترکیبات الکلی، کافور باعث کاهش درد التهابی می‌شود. کافور موجب غیرحساس‌شدن کانال‌های $TRPV1$ (گیرنده‌های بالقوه گذرای وانیلوئید تیپ یک) شده که اثرات ضددردی دارد و کافور سنتز نیتریک‌اکساید، سیتوکاین‌ها و پروستاگلاندین$E2$ را مهار می‌کند. همچنین سبب مهار آزادسازی کلسیم می‌شود [۳۱].

بررسی‌ها نشان داده‌اند که نورون‌های گانگلیای حسی شامل دو گروه هستند [۳۲]. اثرات درد حاصل از نورون‌های گروه اول احتمالاً مربوط به گیرنده‌های درد نوع C و نوع دو A دلتا است و اثر درد حاصل از نورون‌های گروه دوم مربوط به گیرنده‌های نوع یک A دلتا است. در نورون‌های گروه اول که با آستانه متوسط حرارتی تحریک می‌شوند گیرنده‌های $VR1$ (گیرنده وانیلوئید) نقش دارند. در مورد نورون‌های گروه دوم که به آستانه حرارتی بالا پاسخ می‌دهند، گیرنده‌های $VRL1$ (گیرنده وانیلوئیدمانند نوع ۱) نقش دارند. به‌احتمال زیاد، ترکیبات موثر در عصاره باعث مهار گیرنده‌های $VR1$ می‌شوند، ولی بر گیرنده‌های $VRL1$ اثری ندارند. تحریک گیرنده‌های $VRL1$ سبب ایجاد پردردی در آزمون درد حرارتی شده است [۳۳].

برای ترکیبات ترپنی خاصیت مهارکنندگی متابولیزم اسیدآراشیدونیک و آنزیم نیتریک‌اکسیدسنتتاز ذکر شده است. همچنین لینالول یکی از ترکیبات مونوترپنی دارچین است که بر رسپتورهای درد اثر کرده و سبب خاصیت ضددردی می‌شود. لینالول با بازکردن کانال‌های پتاسیمی باعث ایجاد توان مهاری در نورون های سیستم عصبی مرکزی می‌شود. همچنین مونوترپن‌های فنولی نظیر تیمول و کارواکرول دارای اثرات مهارکننده بر پروستاگلاندین‌ها هستند [۳۴]. بخشی از اثرات ضددردی و ضدالتهابی گیاه را هم می‌توان به حضور ترکیبات ترپنی خصوصاً منوترپن‌ها و سزکوئی‌ترپن‌ها در عصاره مریم‌گلی ارغوانی نسبت داد که از طریق مهار متابولیزم اسیدآراشیدونیک و آنزیم نیتریک‌اکسیدسنتتاز عمل می‌کنند. محدودیت قابل ذکری وجود نداشت. پیشنهاد می‌شود که در مطالعات آتی به‌منظور بررسی

مکانیسم دقیق این عصاره از آنتاگونیست و آگونیست‌های گیرنده VRL-1 استفاده شود.

نتیجه‌گیری

تجویز درون‌صفاقی عصاره هیدروالکلی مریم‌گلی ارغوانی دارای اثرات ضددردی است، به‌طوری که سبب کاهش شدت درد شیمیایی در آزمون فرمالین می‌شود.

تشکر و قدردانی: بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد تقدیر و تشکر می‌شود.

تاییدیه اخلاقی: انجام کلیه آزمایش‌ها در آزمایشگاه تحقیقاتی فیزیولوژی جانوری دانشگاه فردوسی مشهد مطابق دستورالعمل اخلاقی موجود در خصوص کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد.

تعارض منافع: موردی توسط نویسندگان اعلام نشده است.

منابع مالی: توسط دانشگاه فردوسی مشهد تامین شده است.

منابع

1- Walsh DA, Mc Williams DF. Mechanisms, impact and management of pain in rheumatoid arthritis. Nat Rev Rheumatol. 2014;10(10):581-92.
2- Bahmani M, Shirzad H, Majlesi M, Shahinfard N, Rafieian Kopaei M. A review study on analgesic applications of Iranian medicinal plants. Asian Pac J Trop Med. 2014;7S1:S43-53.
3- De Melo MS, Quintans JJS, Araújo AAS, Duarte MC, Bonjardim LR, Nogueira PCL, et al. A systematic review for anti-inflammatory property of clusiaceae family: A preclinical approach. Evid Based Complement Alternat Med. 2014;960258.
4- Cash JL, Norling LV, Perretti M. Resolution of inflammation: Targeting GPCRs that interact with lipids and peptides. Drug Discov Today. 2014;19(8):1186-92.
5- Nishimoto N, Kishimoto T. Interleukin 6: From bench to bedside. Nat Clin Pract Rheumatol. 2006;2(11):619-26.
6- Saeed MK, Deng Y, Dai R, Li W, Yu Y, Iqbal Z. Appraisal of antinociceptive and anti-inflammatory potential of extract and fractions from the leaves of Torreya grandis Fort Ex. J Ethnopharmacol. 2010;127(2):414-8.
7- Amiri H. Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil and methanolic extract of Salvia multicaulis Vahl. JMP. 2012;1(41):111-7. [Persian]
8- Eidi A, Parivar K, Mazouji A, Akhtari Z. Antinociceptive effects of essential oil of Salvia hypoleuca L. in mice. Med Sci J Islamic Azad Univ. 2006;16(3):165-9. [Persian]
9- Azizi A, Azizi AM, Azizi G. Essential oils composition and antimicrobal effects of essential oils and methanol extracts of Salvia multicaulis. Vahl against Xanthomonas translucens pv. Cerealis. J Plant Sci Res. 2009;15(3):39-48.
10- Carta C, Morettib DLM, Peana AT. Activity of the oil of Salvia officinalis L. against Botrytis cinerea. J Essen Oil Res. 1996;8(4):399-404.
11- Piccaglia R, Marotti M, Dellacecca V. Effect of planting density and harvest date on yield and chemical composition of sage oil. J Essen Oil Res. 1997;9(2):187-91.
12- Mancini E, Arnold NA, De Martino L, De Feo V, Formisano C, Rigano D, et al. Chemical composition and phytotoxic effects of essential oils of Salvia hierosolymitana boiss. and Salvia multicaulis vahl. var. Simplicifolia boiss. growing wild in Lebanon. Molecules. 2009;14(11):4725-36.
13- Ulubelen A, Topcu G. Salvimultine, a new noricetexane diterpene from the roots of Salvia multicaulis. J Nat Prod. 2000;63(6):879-80.
14- Şahin F, Güllüce M, Daferera D, Sökmen A, Sökmen M, Polissiou M, et al. Biological activities of the essential oils and methanol extract of Origanum vulgare ssp. vulgare in the Eastern Anatolia region of Turkey. Food Control. 2004;15(7):549-57.
15- Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. J Am Soc Mass Spectrom. 1997;6(8):671-2.
16- Zimmermann M. Ethical considerations in relation to pain in animal experimentation. Acta Physiol Scand Suppl. 1986;554:221-33.
17- 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.
18- Heidari Oranjaghi N, Azhdari Zarmehri H, Erami E, Haghparast A. Antagonism of orexin-1 receptors attenuates swim-and restraint stress-induced antinociceptive behaviors in formalin test. Pharmacol Biochem Behav. 2012;103(2):299-307.
19- Randolph BC, Peters MA. Analgesic effectiveness of ketorolac compared to meperidine in the rat formalin test. Anesth Prog. 1997;44(1):11-6.
20- D'amour FE, Smith DL. A method for determining loss of pain sensation. J Pharmacol Exp Ther. 1941;72(1):74-9.
21- Fereidoni M, Ahmadiani A, Semnanian S, Javan M. An accurate and simple method for measurement of paw edema. J Pharmacol Toxicol Methods. 2000;43(1):11-4.
22- Tepe B, Donmez E, Unlu M, Candan F, Daferera D, Vardar-Unlu G, et al. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of Salvia cryptantha (Montbret et Aucher ex Benth.) and Salvia multicaulis (Vahl). Food Chem. 2004;84(4):519-25.
23- Heidari MR, Vahedian M, Moamenzadeh S, Hayatbakhsh Abbasi MM. The analgesic effect and possible mechanism of colchicum szovitsii methanolic extract in mouse. J Rafsanjan Univ Med Sci. 2005;4(1):25-33. [Persian]
24- Verdi J, Kamalinezhad M, Sabet Kasaei M, Sharif SH. Analgesic Effect Of Aqueous Satureja Hortensis L. Seed Extract In Male Rat. Physiol Pharmacol J. 2004;8(2):163-8. [Persian]
25- Vaez G, Tavasoli Z, Ranjbar Bahadori S. Study on the different dosages of Elaeagnus angustifolia aqueous extract with and without morphine on the antinociceptive rate in mice. Pejouhesh. 2011;35(1):27-33. [Persian]
26- Taherian AA, Etemadi H, Sadeghi H. Assessment of aqueous extract of seed of Cuminum cyminum L. on neurogenic and inflammatory pain in mice. JMP. 2007;4(24):44-50. [Persian]
27- Parveen Z, Yulin D, Muhammad KS, Rongji D, Waqar A, Yu Hong Y. Antiinflammatory and analgesic activities of Thesium chinense Turcz extracts and its major

flavonoids, kaempferol and kaempferol-3-O-glucoside. Yakugaku Zasshi. 2007;127(8):1275-9.
28- Hoodgar F, Nasri S, Amin GHR. Investigation of antinociceptive and anti-inflammatory effects of hydro-alcoholic extract of Securigera securidaca L. Horizon Med Sci. 2011;17(2):12-9. [Persian]
29- Alibabaei Z, Pilehvarian AA, Shirani M, Kheiri S, Taji F, Asgari A, et al. Effect of Euphorbia helioscopia on acetic acid-induced abdominal constrictions in Balb/c mice. J Shahrekord Univ Med Sci. 2010;11(4):9-14. [Persian]
30- Dashti Rahmatabadi MH, Vahidi Mehrjardi AR, Pilavaran AA, Farzan F. Antinociceptive effect of cinnamon extract on formalin induced pain in rat. JSSU. 2009;17(2):190-9. [Persian]
31- Morshedi A, Dashti MH, Dehghan HM, Bagherinasab MA, Salami AS. The effect of Artemisia sieberi Besser on inflammatory and neurogenic pain in mice. JMP. 2011;4(40):48-57. [Persian]
32- Nagy I, Rang H. Noxious heat activates all capsaicin-sensitive and also a sub-population of capsaicin-insensitive dorsal root ganglion neurons. Neuroscience. 1999;88(4):995-7.
33- Julius D, Basbaum AI. Molecular mechanisms of nociception. Nature. 2001;413(6852):203-10.
34- Pahlavan Y, Sepehri GR, Afarinesh Khaki MR, Sheibani V, Esmail Pour 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(2):134-42. [Persian]