

اثر ضد دردی عصاره اتانولی بخش‌های هوایی گیاه مریم گلی پنبه‌ای در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نژاد NMRI

اکرم عیدی

گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۲۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۵/۲۶

چکیده

زمینه و هدف: گیاهان دارویی برای سالیان متمادی در سراسر دنیا جهت تسکین درد استفاده شده‌اند. بسیاری از گونه‌های سالویا در سراسر دنیا در طب سنتی و آشپزی استفاده می‌شوند. هدف این مطالعه بررسی اثرات ضددردی عصاره اتانولی بخش‌های هوایی گیاه مریم گلی پنبه‌ای در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نژاد NMRI بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۱۲۶ سر موش کوچک آزمایشگاهی نژاد NMRI به صورت تصادفی انتخاب شده و جهت انجام سه آزمون فرمالین، صفحه داغ و اسید استیک استفاده گردیدند. در هر آزمون هفت گروه و در هر گروه شش موش قرار داشت. حیوانات با عصاره اتانولی بخش‌های هوایی گیاه مریم گلی پنبه‌ای با غلظت‌های ۱، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن یا مرفین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به عنوان داروی استاندارد تیمار شدند. حیوانات دست نخورده به عنوان کنترل در نظر گرفته شدند. گروه شاهد با سرم فیزیولوژیک تیمار شدند. در آزمون فرمالین، فرمالین به سطح پشتی پنجه پای راست تزریق گردید. حیوانات ۶۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین مشاهده گردیده و امتیاز درد ثبت گردید. امتیاز دریافت درد از صفر تا ۵ دقیقه (فاز اولیه) و ۶۰-۱۵ دقیقه (فاز ثانویه) پس از تزریق فرمالین شمارش گردید. در آزمون صفحه داغ، حیوان در صفحه داغ آلومینیومی با درجه حرارت 55 ± 0.5 سانتی‌گراد در ماکزیمم زمان ۳۰ ثانیه قرار گرفت. به دنبال لیسیدن پنجه پا و پریدن حیوان زمان واکنش در فواصل زمانی قبل از تیمار، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه پس از تیمار عصاره ثبت گردید. در آزمون اسید استیک، درد به وسیله تزریق اسید استیک القا گردید. تعداد انقباضات شکمی پس از تزریق اسید استیک شمارش گردید. فعالیت ضددردی به صورت مهار انقباضات شکمی ارائه گردید. داده‌ها با آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: عصاره گیاه فقط فاز ثانویه درد القاء شده به وسیله تست فرمالین را کاهش داد ($p < 0.05$). عصاره گیاه موجب کاهش انقباضات شکمی ایجاد شده به وسیله اسید استیک شد ($p < 0.05$). در تست صفحه داغ، عصاره اتانولی قادر به افزایش آستانه درد در مدت زمان ۶۰ دقیقه نبود.

نتیجه‌گیری: گیاه مریم گلی پنبه‌ای دارای اثر ضددردی در موش‌های کوچک آزمایشگاهی می‌باشد، ولی به منظور روشن شدن مکانیسم عمل اثر ضددردی عصاره اتانولی این گیاه تحقیق بیشتری مورد نیاز است.

واژه‌های کلیدی: فعالیت ضد دردی، موش کوچک آزمایشگاهی، درد، مریم گلی پنبه‌ای

* نویسنده مسئول: دکتر اکرم عیدی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

Email: eidi@srbiau.ac.ir

مقدمه

درد عمدتاً یک مکانیسم حفاظتی برای بدن است و به دنبال آسیب دیدن بافت‌ها ایجاد می‌گردد و بدین ترتیب شخص را وادار به واکنش به منظور حذف محرک دردزا می‌کند. کلیه گیرنده‌های درد در پوست و سایر بافت‌ها در انتهای آزاد سلول‌های عصبی از جمله در لایه‌های سطحی پوست، پریوست، سطوح مفصلی، عضلات و سایر نواحی گسترده شده‌اند، گیرنده‌های درد به وسیله محرک‌های مکانیکی، شیمیایی و حرارتی فعال می‌شوند (۱). درد حاد و پاسخ‌های مربوطه به وسیله تحریکات دردناک ناشی از صدمات یا بیماری‌های پوستی، ساختمان‌های سوماتیک عمقی، احشاء یا عملکرد غیرطبیعی عضلات یا احشاء برانگیخته می‌شود. درد حاد یا درد سریع به وسیله فیبرهای Aδ انتقال می‌یابد. درد مزمن یک ثانیه و حتی بیشتر از تحریک به وسیله عامل دردزا شروع شده و به مدت چند ثانیه یا چند دقیقه ادامه می‌یابد. این درد از تحریک فیبرهای نوع C ایجاد می‌شود (۲).

اثر آنالژزیک اپیات‌ها از طریق عمل بر گیرنده‌های اپیوئیدی (مو، کاپا و سیگما) در سیستم عصبی مرکزی عموماً در نظر گرفته شده است. هرچند مرفین به عنوان قوی‌ترین تسکین دهنده درد استفاده می‌شود، ولی دارای عوارض جانبی از جمله وابستگی، تنگی نفس، کاهش حرکات سیستم معدی - روده‌ای و تغییر در فعالیت سیستم عصبی خودکار و اندوکراین می‌باشد. داروهای ضد درد غیر اپیوئیدی ترکیباتی با قدرت اندک و عوارض جانبی می‌باشند، اما زمانی

که همراه با اپیوئیدها استفاده شوند باعث کاهش دوز مواد اپیوئیدی خواهند شد. داروهای غیر اپیوئیدی شامل داروهای غیراستروئیدی ضدالتهابی^(۱)، استامینوفن، آنتاگونیست‌های NMDA^(۲)، کتامین، دکسترومتورفان، آنتاگونیست‌های α_2 -آدرنرژیک می‌باشند (۳). NSAIDs سنتز پروستاگلاندین‌ها را در نخاع شوکی و محیط مهار می‌نمایند و با مهار سیکلواکسیژناز ۲ نقش مهمی را در تعدیل درد بازی می‌کنند (۴). استامینوفن مهار کننده سنتز پروستاگلاندین‌ها عمدتاً در سیستم عصبی مرکزی و به صورت کمتر در سیستم عصبی محیطی است (۵). آنتاگونیست‌های NMDA به عنوان داروهای ضد درد استفاده می‌شوند. گلوتامات نوروترانسمیتر تحریکی مهمی در سیستم عصبی مرکزی است. بلوکه نمودن گیرنده‌های گلوتامات جهت مهار انتقال درد استفاده می‌گردد (۶). کتامین ماده‌ای آنالژزیک است که به صورت غیررقابتی به عنوان آنتاگونیست گیرنده NMDA عمل می‌نماید (۷). دکسترومتورفان با آنتاگونیزه نمودن گیرنده‌های NMDA اثرات ضددردی خود را ایفا می‌نماید. هرچند دکسترومتورفان همانند کتامین بلوکر کانال است، ولی عوارض کمتری دارد که احتمالاً به دلیل تمایل کمتر آن جهت اتصال به گیرنده NMDA می‌باشد (۸). گیرنده α_2 -آدرنرژیک در شاخ پشتی نخاع قرار دارد و اولین مکانی است که باعث مهار درد پیکری می‌شود. هم‌چنین گیرنده در مغز

۱- Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs)
۲-N-methyl-D-Aspartate (NMDA)

گیاه مریم گلی پنبه‌ای در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر بالغ نژاد NMRI بود.

روش بررسی

این مطالعه تجربی، بعد از کسب مجوز از کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران و رعایت کدهای اخلاقی در حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر بالغ نژاد NMRI با محدوده وزنی ۲۵-۳۰ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شده و در اتاق حیوانات با درجه حرارت کنترل شده 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و نیز رطوبت نسبی ۴۰ تا ۶۰ درصد نگهداری شدند. حیوانات در گروه‌های ۶ تایی در قفس‌های پلکسی گلاس نگهداری شدند و به استثنای زمان آزمایش به آب و غذا دسترسی داشتند. هر حیوان فقط یک‌بار مورد آزمایش قرار گرفت. حیوانات مجموعاً در ۲۱ گروه قرار داشتند. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ سر می‌باشد. حیوانات در هر یک از آزمایش‌های فرمالین، اسید استیک و صفحه داغ در ۷ گروه به این شرح قرار گرفتند؛ گروه ۱ (گروه کنترل)؛ موش‌هایی که هیچ‌گونه تیماری دریافت نکرده‌اند. گروه ۲ (شاهد)؛ موش‌هایی که سرم فیزیولوژیک (حلال عصاره) را دریافت نمودند. گروه‌های ۳-۶؛ موش‌هایی که عصاره اتانلی گیاه را با

وجود دارد و اثرات تسکینی را ایجاد می‌نماید. به دلیل عوارض جانبی دارو با مهار سیستم سمپاتیک استفاده از این دسته دارویی توصیه نمی‌گردد (۹). بشر در سالیان دراز درمان‌های مختلفی از جمله کاربرد گیاهان دارویی برای تسکین درد را استفاده نموده است. استفاده از گیاهان دارویی به دلیل سمیت پایین و عوارض جانبی کمتر در مقایسه با داروهای سنتتیک مورد توجه قرار گرفته است (۱۰).

گیاه مریم گلی پنبه‌ای^(۱) از تیره نعناعیان^(۲)، گیاهی دو ساله یا پایا، به رنگ سبز، ایستاده، پوشیده از تار کرک‌های بلند و غده می‌باشد. گل‌های گیاه به رنگ سفید، مجتمع در گل‌آذینی بسیار بزرگ شاخه‌های شمع‌مان هستند. موسم گل‌دهی گیاه اردیبهشت - خرداد ماه است. انتشار جغرافیایی گیاه در نواحی شمال شرقی (بجنورد)، شمال (گیلان) و شمال غربی (خوی، اهر، اردبیل و آستارا) کشور می‌باشد (۱۱). اسانس به دست آمده از بخش‌های هوایی گیاه عمدتاً حاوی β -caryophyllene (۲۱٪) و α -copaene و (۱۸٫۶٪) germacrene D می‌باشد (۱۲). وجود سسترتترین‌ها در این گیاه گزارش شده است (۱۳). گیاه دارای ترکیبات spathulenol و aethiopinone است (۱۴ و ۱۵). گیاه دارای خصوصیات ضدباکتریایی می‌باشد (۱۴).

با توجه به لزوم احیای طب سنتی و شناسایی اثرات ضددردی گیاهان دارویی موجود در طبیعت که دارای آثار درمانی با ارزشی هستند، هدف این مطالعه بررسی اثر ضددردی تیمار خوراکی بخش‌های هوایی

۱-Salvia aethiopsis
۲-Labiatae/Lamiaceae

اندازه‌گیری می‌شود. نحوه نمره‌گذاری بدین ترتیب می‌باشد؛ امتیاز صفر: هر دو پنجه حیوان روی کف جعبه قرار گرفته‌اند، وزن حیوان به طور مساوی روی آنها قرار دارد. حین حرکت نیز ترجیح اختیاری جهت استفاده از پنجه مقابل وجود ندارد. امتیاز یک: پای تزریق به آرامی روی کف یا بخشی از بدن حیوان قرار گرفته و فشار کمی روی آن اعمال می‌شود. حین حرکت لنگیدن به صورت واضح دیده می‌شود. امتیاز دو: پای تزریق کاملاً از کف جعبه برداشته می‌شود و تماسی با سطح ندارد. پای مقابل محکم روی سطح قرار گرفته است. امتیاز سه: حیوان پای تزریق شده را لیس می‌زند، گاز می‌گیرد یا به شدت می‌لرزاند. این حرکت به طور مشخصی با حرکات حیوان جهت تمیز کردن خودش متفاوت است. گرچه تبدیل شدن یکی به دیگری ممکن است دیده شود (۱۷ و ۱۶).

برای انجام تست اسید استیک؛ موش‌ها با عصاره یا مرفین به حجم ۰/۲ میلی‌لیتر به صورت درون صفاقی تیمار شدند. بعد از ۳۰ دقیقه ۰/۲ میلی‌لیتر اسید استیک یک درصد به صورت درون صفاقی تزریق شد. تزریق درون صفاقی اسید استیک باعث انقباض شکمی توأم با کشیدن پاهای عقبی می‌شود. ۵ دقیقه بعد از تزریق اسید استیک، تعداد انقباضات شکمی در مدت زمان ۲۰ دقیقه شمارش گردید (۱۸).

برای انجام تست صفحه داغ، ابتدا حیوانات با عصاره یا مرفین به حجم ۰/۲ میلی‌لیتر به صورت درون صفاقی تیمار شدند. موش‌ها قبل از تزریق (دقیقه صفر) و نیز در دقایق ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ بعد از تزریق بر روی صفحه داغ با دمای ۵۶ درجه

دوزهای ۱، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت نمودند و گروه ۷؛ موش‌هایی که مرفین را با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند.

گیاه مریم گلی پنبه‌ای از منطقه لوشان، اطراف تهران جمع‌آوری شده و در هرباریوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران از نظر تاکسونومیکي مورد شناسایی قرار گرفت. بخش‌های هوایی گیاه در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در شرایط سایه خشک شده، با استفاده از آسیاب مکانیکی به صورت پودر درآمد. پودر خشک تا زمان آزمایش در فریزر یخچال نگهداری گردید. سپس عصاره الکلی گیاه با استفاده از دستگاه سوکسله و اتانول ۸۰ درصد به دست آمده و به وسیله دستگاه روتاری خشک گردید.

جهت انجام آزمایش از جعبه شیشه‌ای به ابعاد ۳۰ × ۱۳ × ۱۲ سانتی‌متر استفاده گردید و طوری ساخته شد که در فاصله‌ای از جعبه و سطح افق، آئینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه قرار گرفت تا مشاهدات را آسان‌تر می‌کند. در روز آزمایش هر حیوان ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش در جعبه شیشه‌ای قرار داده شد تا به محیط عادت کند. ابتدا ۰/۲ میلی‌لیتر عصاره یا مرفین به صورت درون صفاقی به حیوان تزریق شد و بعد از ۱۵ دقیقه، مقدار ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۲/۵ درصد به صورت زیرجلدی به سطح پشتی پای راست حیوان تزریق شد. مدت زمانی (برحسب ثانیه) که صرف لیسیدن و گاز گرفتن پای تزریق شده می‌شود، در دوره‌های زمانی ۰-۵ دقیقه (فاز اولیه) و سپس ۶۰-۱۵ دقیقه (فاز ثانویه) به عنوان شاخص درد

در موش می‌گردد. تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های کنترل و شاهد وجود ندارد (نمودارهای ۱ و ۲).

هم‌چنین نتایج نشان داد که تزریق درون‌صفافی عصاره اتانولی بخش‌های هوایی گیاه مریم‌گلی پنبه‌ای در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و مرفین در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش انقباض شکمی القاء شده به وسیله تست اسید استیک در موش نر بالغ می‌شود. تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های کنترل و شاهد وجود ندارد (نمودار ۳).

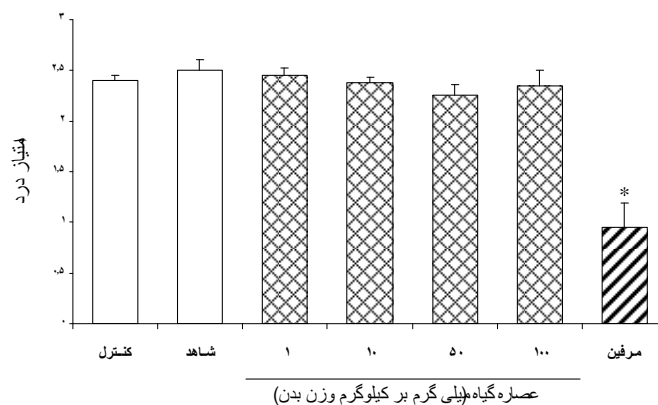
بر اساس نتایج حاصله، تزریق درون‌صفافی عصاره اتانولی بخش‌هایی هوایی گیاه مریم‌گلی پنبه‌ای در دوزهای ۱، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن باعث تأخیر معنی‌داری در پاسخ القاء شده به وسیله صفحه داغ در موش نر بالغ نمی‌گردد. مرفین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موجب تأخیر معنی‌داری در پاسخ القاء شده به وسیله صفحه داغ می‌گردد. تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های کنترل و شاهد وجود ندارد (جدول ۱).

سانتی‌گراد قرار گرفتند و زمان عکس‌العمل روی صفحه داغ اندازه‌گیری شد. عکس‌العمل حیوان شامل پریدن یا لیسیدن یکی از پنجه‌های عقبی یا جلویی می‌باشد. برای جلوگیری از آسیب بافتی، اگر حیوانات بعد از ۲۰ ثانیه هیچ‌گونه واکنشی نداشتند از روی صفحه برداشته می‌شدند (۱۹).

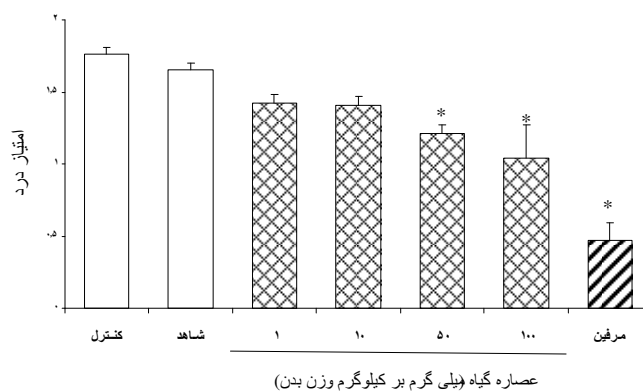
داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

نتایج نشان داد که تزریق درون‌صفافی عصاره اتانولی بخش‌های هوایی گیاه مریم‌گلی پنبه‌ای در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش فاز ثانویه و نه فاز اولیه درد القاء شده به وسیله تست فرمالین در موش نر بالغ می‌گردد. تزریق درون‌صفافی مرفین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش معنی‌دار هر دو فاز اولیه و ثانویه درد القاء شده به وسیله تست فرمالین

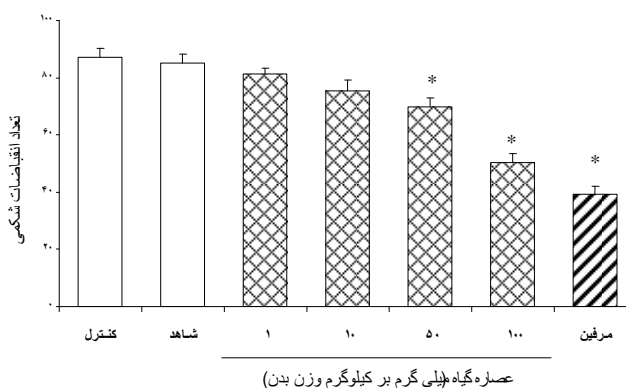


نمودار ۱: مقایسه اثر تزریق درون‌صفافی عصاره اتانولی بخش‌های هوایی گیاه مریم‌گلی پنبه‌ای در دوزهای مختلف مرفین بر فاز اولیه درد القاء شده به وسیله تست فرمالین در موش کوچک آزمایشگاهی
* اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد و کنترل ($P < 0.05$)



نمودار ۲: مقایسه اثر تزریق درون‌صفافی عصاره اتانلی بخش‌های هوایی گیاه مریم گلی پنبه‌ای و مرفین بر فاز ثانویه درد القاء شده به وسیله تست فرمالین در موش کوچک آزمایشگاهی نر

* اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد و کنترل ($P < 0.05$)



نمودار ۳: مقایسه اثر تزریق درون‌صفافی عصاره اتانلی بخش‌های هوایی گیاه مریم گلی پنبه‌ای و مرفین بر انقباضات شکمی القاء شده به وسیله تست اسید استیک در موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ

* اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد و کنترل ($P < 0.05$)

جدول ۱: اثر تزریق درون‌صفافی عصاره اتانلی بخش‌های هوایی گیاه مریم گلی پنبه‌ای و مرفین در مدت زمان تأخیر در پاسخ القاء شده به وسیله صفحه داغ در موش کوچک آزمایشگاهی نر

گروه	زمان (دقیقه)	صفر	۱۵	۳۰	۴۵	۶۰
کنترل	۲/۸ ± ۰/۰۷	۳/۸ ± ۰/۰۸	۲/۴ ± ۰/۰۳	۲/۵ ± ۰/۰۲	۲/۸ ± ۰/۰۲	۲/۸ ± ۰/۰۲
شاهد	۲/۰ ± ۰/۰۵	۳/۳ ± ۰/۰۲	۳/۰ ± ۰/۰۴	۳/۲ ± ۰/۰۶	۲/۹ ± ۰/۰۳	۲/۹ ± ۰/۰۳
عصاره گیاه (میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن):						
۱	۲/۳ ± ۰/۰۶	۳/۷ ± ۰/۰۱۵	۳/۶ ± ۰/۰۳۵	۳/۶ ± ۰/۰۵	۲/۸ ± ۰/۰۵	۲/۸ ± ۰/۰۵
۱۰	۲/۴ ± ۰/۰۹	۳/۰ ± ۰/۰۱۴	۳/۳ ± ۰/۰۲۴	۳/۷ ± ۰/۰۵۳	۲/۷ ± ۰/۰۴	۲/۷ ± ۰/۰۴
۵۰	۲/۸ ± ۰/۰۳	۲/۲ ± ۰/۰۲۳	۲/۵ ± ۰/۰۳	۲/۷ ± ۰/۰۴۴	۲/۴ ± ۰/۰۵	۲/۴ ± ۰/۰۵
۱۰۰	۲/۵ ± ۰/۰۱	۲/۴ ± ۰/۰۳	۲/۷ ± ۰/۰۵	۳/۰ ± ۰/۰۶	۲/۶ ± ۰/۰۷	۲/۶ ± ۰/۰۷
مرفین	۲/۵ ± ۰/۰۱۵	۴/۹ ± ۰/۰۲۵*	۵/۸ ± ۰/۰۴۵*	۶/۵ ± ۰/۰۷*	۶/۵ ± ۰/۰۷*	۶/۴ ± ۰/۰۹*

* اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد و کنترل ($P < 0.05$)

بحث

هر دو تست (اسید استیک و فاز ثانویه تست فرمالین) ایجاد نماید.

ترکیبات شیمیایی بسیاری از گیاهان با خصوصیات ضد دردی شناسایی شده‌اند که از جمله می‌توان به گروه فنانتون همراه یا بدون *gamma-phenyl-N-methyl-piperidine* موجود در آکالوئیدها، کانابینوئیدها، سالیسین و سالیسیک اسید و تعداد وسیعی از آکالوئیدها، ترپنوئیدها، کاپسازینوئیدها، استروئیدها، فلاونوئیدها، گزانتین‌ها، تامین‌ها، گزافتون‌ها، لیگان‌ها، ساپونین‌ها، لاکتون‌ها، گلیکوزیدها اشاره نمود (۲۰). گیاه مریم گلی پنبه‌ای مورد بررسی در تحقیق حاضر با دارا بودن بخشی از ترکیبات فوق اثرات ضددردی خود را ایفا می‌کنند. مشخص شده است که تری‌ترپنوئیدها، *betulinic*، *oleanolic* و *ursolic acids* دارای فعالیت‌های ضددردی می‌باشند (۲۱). *ursolic acids* مهار کننده انتخابی سیکلواکسیژناز ۲- می‌باشد (۲۲). گزارش شده است که اثر ضددردی *oleanolic acid* با دخالت مکانیسم اوپیوئیدی صورت می‌گیرد که احتمالاً از طریق گیرنده‌های وانیلوئیدی مدوله می‌گردد (۲۳). *1,8-cineole* دارای اثرات ضددردی و ضد التهابی می‌باشد (۲۴).

ترکیبات اسانس گیاهان جنس سالویا شامل: فلاون‌ها، فنولیک اسید، گلیکوزیدهای فنیل پروپانوئید، تری‌ترپنوئیدها و دی‌ترپن‌ها که شامل فنولیک، کوئینوئیدال می‌باشد. گزارش‌های حاکی از آن است که ترکیبات مهم اسانس گیاهان این جنس شامل

نتایج مطالعه نشان داد که عصاره الکلی گیاه مریم گلی پنبه‌ای دارای اثرات ضد دردی محیطی است. نتایج تحقیق حاضر حاکی از آن است که گیاه تأثیری بر فاز اولیه درد القاء شده به وسیله تست فرمالین در موش کوچک آزمایشگاهی ندارد، در حالی که عصاره گیاه به صورت وابسته به دوز فاز ثانویه درد القاء شده به وسیله تست فرمالین را به صورت معنی‌داری کاهش می‌دهد. عصاره الکلی گیاه به صورت وابسته به دوز بروز انقباضات شکمی القا شده با اسید استیک را به صورت معنی‌داری در موش کوچک آزمایشگاهی کاهش می‌دهد. عصاره الکلی گیاه تغییر معنی‌داری در مدت زمان تأخیر در پاسخ القاء شده به وسیله آزمون هات پلیت ایجاد نمی‌نماید. با توجه به نتایج تحقیق حاضر و از آنجایی که عصاره گیاه بر فاز اولیه درد القاء شده به وسیله تست فرمالین و پاسخ القاء شده به وسیله آزمون‌های پلیت تأثیر معنی‌داری ندارد، بنابراین گیاه دارای اثرات ضددردی مرکزی نمی‌باشد. از طرف دیگر عصاره گیاه فاز ثانویه درد القاء شده به وسیله تست فرمالین و بروز پاسخ انقباضات شکمی القا شده با اسید استیک را به صورت معنی‌داری کاهش می‌دهد، بنابراین گیاه دارای اثرات ضددردی محیطی می‌باشد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر دوز اپتیمم عصاره گیاه ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تعیین گردید. دوز مذکور حداقل میزانی است که می‌تواند پاسخ معنی‌داری در کاهش درد القا شده در

سبب القاء درد التهابی به وسیله القاء نفوذپذیری مویرگی می‌گردد. اگر چه این تست کاملاً تخصصی نمی‌باشد، ولی روش بسیار حساسی برای نشان دادن اثرات ضددردی پیچیده می‌باشد. اثرات مشاهده شده همچنین پیشنهاد می‌کنند که احتمالاً پروستاگلاندین‌ها در عمل ضددردی گیاهان مورد بررسی درگیر شده باشند. فعالیت ضددردی آگونیست اوپیوئیدی، پارشیال آگونیست و نمایندگان ضدالتهابی غیراستروئیدی را می‌توان به وسیله تست انقباضات شکمی شناسایی نمود (۲۷). انقباضات شکمی وابسته به حساسیت گیرنده‌های درد به پروستاگلاندین‌ها می‌باشد. بنابراین احتمالاً گیاهان مورد استفاده اثرات ضددردی خود را از طریق سنتز مهارکنندگان یا فعالیت پروستاگلاندین‌ها القاء می‌نماید. بنابراین عملکرد ضد دردی این گیاهان احتمالاً ناشی از سرکوب پروستاگلاندین اکسیژناز و تنظیم گیرنده‌های درد می‌باشد (۲۸). وجود لاکتون‌های سسکوی‌ترین در گیاهان جنس سالویا شناسایی شده است (۲۹). مکانیسم عمکرد لاکتون‌های سسکوی‌ترین احتمالاً از طریق مهار سیکلواکسیژناز و سیتوکین‌های پیش‌التهابی در ماکروفاژها صورت می‌گیرد (۳۰). میانجی‌کننده‌های التهاب اسید آراشیدونیک را در تنوعی از جمعیت‌های سلولی مختلف تولید می‌کنند که منجر به تشکیل پروستاگوانوئیدها (مانند پروستاگلاندین‌ها و ترومبوکسان‌ها) از طریق مسیر سیکلواکسیژناز و لوکوترین‌ها از طریق مسیر لپواکسیژناز می‌شود. مهار سیکلواکسیژناز به وسیله

cis - and trans - thujone می‌باشد. هم‌چنین اسانس برخی گونه‌ها مانند مریم گلی خواص آنتی‌اکسیدان و محافظ‌کننده کبدی دارد، هر چند که پتانسیل اثرات محافظ کبدی اسانس برگ گیاه مریم گلی هنوز ناشناخته باقی مانده است (۲۵).

مهم‌ترین ویژگی تست فرمالین این است که چونندگان دو نوع پاسخ به درد را نشان می‌دهند که ظاهراً از طریق دو مکانیسم مختلف عمل می‌کنند. مرحله اول بلافاصله بعد از تزریق فرمالین ظاهر می‌شود که به مدت ۵ دقیقه طول می‌کشد. ظاهراً این درد به علت تحریک شیمیایی مستقیم گیرنده‌های درد است. شواهد نشان می‌دهد که فرمالین، به خصوص فعالیت رشته‌های C را زیاد می‌کند و عمل آن از طریق فیبرهای Aδ صورت نمی‌گیرد. در فاصله ۱۵ دقیقه بعد از تزریق فرمالین، حیوان رفتار خاصی از خود نشان نمی‌دهد، بعد از ۲۰-۱۵ دقیقه فاز دوم درد شروع می‌شود و حیوان دوباره شروع به لیسیدن پای مربوطه را ادامه می‌دهد که حدوداً ۴۰ دقیقه طول می‌کشد. بنابراین دو نوع درد، با دو مکانیسم مختلف وجود دارد. مطالعات مختلف نشان می‌دهد که ماده P و برادی‌کینین در فاز اول نقش دارند، در حالی که در فاز دوم، هیستامین، سروتونین، پروستاگلاندین و برادی‌کینین نقش دارند (۲۶).

در تست انقباضات شکمی، اسید استیک تزریق شده به صورت درون صفاقی موجب افزایش پروستاگلاندین‌ها در سطح مایع صفاقی می‌گردد و بخشی از گیرنده‌های صفاقی را درگیر می‌نماید و

داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی منجر به جلوگیری از تشکیل پروستاگلاندین و بنابراین ایجاد آنالژژیک و اثرات ضد التهابی می‌شود (۳۱).

آزمایش هات پلیت یک مدل درد حاد فوق نخاعی است. درد حاد هم در جانوران و هم در انسان شرایطی است که به پاتولوژی مرتبط نیست، بنابراین بی‌شبهت به درد التهابی و نوروپاتی که در آنها علایم ثابت بیماری توسعه می‌یابند، مدل‌های درد حاد رفتارهای دفاعی خود به خود ایجاد می‌کند (۳۲). گیاه مریم گلی پنبه‌ای دارای ترکیب aethiopinone می‌باشد. گزارش شده است که این ترکیب دارای اثرات ضددردی است (۳۳). گیاه دارای ترکیب کاروفیلین می‌باشد، کاروفیلین دارای فعالیت ضدالتهابی است که موجب توقف تولید نیتریک اکساید از طریق ماکروفاژهای تحریک شده به وسیله لیپوپلی‌ساکارید می‌گردد. ترکیب کاروفیلین در گونه‌های دیگر جنس سالویا نیز گزارش شده است (۳۴).

نتیجه‌گیری

در مجموع این مطالعه نشان داد که تیمار عصاره الکلی بخش‌های هوایی گیاه مریم گلی پنبه‌ای موجب کاهش درد مزمن القاء شده به وسیله تست‌های فرمالین و اسید استیک می‌شود. تحقیقات بیشتری جهت روشن شدن مکانیسم عمل گیاه مورد مطالعه و ترکیبات مؤثر در عملکرد گیاه مورد نیاز است تا بتوان خاصیت درمانی گیاه را به روشنی مورد توجه قرار داد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل طرح تحقیقاتی مصوب صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور می‌باشد.

REFERENCES

۱. Serpell M. Anatomy, physiology and pharmacology of pain. *Surgery* ۲۰۰۶; ۲۴:۳۵۰-۳.
۲. Matthews EA, Dickenson AH. Pain pathophysiology, *Pain Medicine Manual* ۲۰۰۴; ۳: ۱۱-۲۸.
۳. Buvanendran A, Reuben SS, Kroin JS. Recent advances in nonopioid analgesics for acute pain management. *Techniques in Regional Anesthesia and Pain Management* ۲۰۰۷; ۱۱: ۱۹-۲۶.
۴. McCormack K. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and spinal nociceptive processing. *Pain* ۱۹۹۴; ۵۹: ۹-۴۳.
۵. Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KL. COX-۳, a cyclooxygenase-۱ variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proc Natl Acad Sci* ۲۰۰۲; ۹۹: ۱۳۹۲۶-۳۱.
۶. Salter MW. Cellular signaling pathways of signal pain neuroplasticity as targets for analgesic development. *Curr Top Med Chem* ۲۰۰۵; ۵: ۵۵۷-۶۷.
۷. Subramaniam K, Subramaniam B, Steinbrook RA. Ketamine as adjuvant analgesic to opioids: a quantitative and qualitative systemic review. *Anesth Analg* ۲۰۰۴; ۹۹: ۴۸۲-۹۵.
۸. Duedahl TH, Dirks J, Petersen KB. Intravenous dextromethorphan to human volunteers: relationship between pharmacokinetics and anti-hyperalgesic effect. *Pain* ۲۰۰۵; ۱۱۳: ۳۶۰-۸.
۹. Eisenach JC, Tong C. Site of hemodynamic effects of intrathecal α_2 adrenergic agonists. *Anesthesiology* ۱۹۹۱; ۷۴: ۷۶۶-۷۱.
۱۰. Almeida RN, Navarro DS, Barbosa-Filho JM. Plants with central analgesic activity. *Phytomedicine* ۲۰۰۱; ۸: ۳۱۰-۲۲.
۱۱. Ghahreman A. Flora of Iran. ۱۹۹۷; Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran; ۱۵۹۷; ۱۳.
۱۲. Tajbakhsh M, Rineh A, Khalilzadeh MA, Eslami B. Chemical constituents of the essential oils from leaves, flowers, stem and aerial parts of *Salvia aethiopsis* L. from Iran. *J Essent Oil Res* ۲۰۰۷; ۱۹: ۵۶۹-۷۱.
۱۳. Gonzalez MS, Sansegundo JM, Grande MC, Medarde M, Bellido IS. Sesterterpene lactones from *Salvia aethiopsis*. Salviaethiopsolide and ۱۳-epi-salviaethiopsolide. *Tetrahedron* ۱۹۸۹; ۴۵: ۳۵۷۵-۸۲.
۱۴. Hernandez-Perez M, Rabanal RM, Arias A, de La Torre MC, Rodriguez B. Aethiopinone, an antibacterial and cytotoxic agent from *Salvia aethiopsis* roots. *Pharm Biology* ۱۹۹۹; ۳۷: ۱۷-۲۱.
۱۵. Torres M, Velasco-Negueruela A, Pérez-Alonso M, Pinilla M. Volatile constituents of two *Salvia* species grow wild in Spain. *J Essent Oil Res* ۱۹۹۷; ۹: ۲۸-۳۳.
۱۶. Moore PK, Oluyomi AO, Babbedge RC, Wallace P, Hart SL. I-NG-nitro arginine methyl ester exhibits antinociceptive activity in the mouse. *Br J Pharmacol* ۱۹۹۱; ۱۰۲: ۱۹۸-۲۰۲.
۱۷. Hunskaar S, Fasmer OB, Hole K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. *J Neurosci Methods* ۱۹۸۵; ۱۴: ۶۹-۷۶.
۱۸. Collier HDJ, Dinnin LC, Johnson CA, Schneider C. The abdominal response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *Br J Pharmacol Chemother* ۱۹۶۸; ۳۲: ۲۹۵-۳۱۰.
۱۹. Franzotti EM, Santos CVF, Rodrigues HMSL, Mourao RHV, Andrade MR, Antonioli AR. Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Sida cordifolia* L. (Malva-branca). *J Ethnopharmacol* ۲۰۰۰; ۷۲: ۲۷۳-۷.
۲۰. Calixto JB, Beirith A, Ferreira J, Santos ARS, Cechinel Filho V, Yunes RA. Naturally occurring antinociceptive substances from plants. *Phytother Res* ۲۰۰۰; ۱۴: ۴۰۱-۱۸.
۲۱. Aguirre MC, Delporte C, Backhouse N, Erazo S, Letelier ME, Cassels BK, et al. Topical anti-inflammatory activity of γ - β -hydroxy pentacyclic triterpene acids from the leaves of *Ugni molinae*. *Bioorgan Med Chem* ۲۰۰۶; ۱۴: ۵۶۷۳-۷.
۲۲. Ringbom T, Segura L, Noreen Y, Perera P, Bohlin L. Ursolic acid from *Plantago major*, a selective inhibitor of cyclooxygenase-۲ catalyzed prostaglandin biosynthesis. *J Nat Prod* ۱۹۹۸; ۶۱: ۱۲۱۲-۵.
۲۳. Maia JL, Lima-Junior RC, David JP, David JM, Santos FA, Rao VS. Oleanolic acid, a pentacyclic triterpene attenuates the mustard oil induced colonic nociception in mice. *Biol Pharm Bull* ۲۰۰۶; ۲۹: ۸۲-۵.
۲۴. Santos FA, Rao VSN. Antiinflammatory and antinociceptive effects of ۱,۸-cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils. *Phytother Res* ۲۰۰۰; ۱۴: ۲۴۰-۴.
۲۵. Lu Y, Foo LY. Polyphenolics of *Salvia* – a review. *Phytochemistry* ۲۰۰۲; ۵۹: ۱۱۷-۴۰.
۲۶. Fejes SZ, Blazovics A, Lemberkovics E, Petri G, Szoke E, Kery A. Free radical scavenging and membrane protective effects of methanol extracts from *Anthriscus cerefolium* L. (Hoffim) and *Petroselinum crispum*. *Phytother Res* ۲۰۰۰; ۴: ۳۶۲-۵.

۲۷. Vogel HG. Drug discovery and evolution. *Pharmacol Assays* ۱۹۹۷; ۴۰:۲-۳.
۲۸. Ferreira SH. Prostaglandins aspirin-like drugs and analgesia. *Nat New Biol* ۱۹۷۲; ۲۴۰: ۲۰۰-۳.
۲۹. Rustaiyan A, Koussari S. Further sesquiterpenes from *Salvia hypoleuca*. *Phytochemistry* ۱۹۸۸; ۲۷: ۷۶۷-۹.
۳۰. Hwang D, Fischer NH, Jang BC, Tak H. Inhibition of the expression of inducible cyclooxygenase and proinflammatory cytokines by sesquiterpene lactones in macrophages correlates with the inhibition of MAP kinases. *Biochem Biophys Res Commun* ۱۹۹۶; ۲۲۶: ۸۱۰-۸.
۳۱. Moskowitz MA, Buzzi MG. Neuroeffector function of sensory fibers. Implication for headache mechanisms and drug actions. *J Neural* ۱۹۹۱; ۲۳۸: ۱۸-۲۲.
۳۲. Casarrubea M, Sorbera F, Crescimanno G. Effects of γ -OH-DPAT and U۹۹۱۹۴ on the behavioral response to the hot plate test in rats. *Physiol Behav* ۲۰۰۶; ۸۹: ۵۵۲-۶۲.
۳۳. Hernández-Perez M, Rabanal RM, de la Torre MC, Rodríguez B. Analgesic, anti-inflammatory, antipyretic and haematological effects of aethiopinone, an o-naphthoquinone diterpenoid from *Salvia aethiopsis* roots and two hemisynthetic derivatives. *Planta Medica* ۱۹۹۵; ۶۱: ۵۰۵-۹.
۳۴. Yu-Tang T, Meng-Thong C, Sheng-Yang W, Shang-Tzen C. Anti-inflammation activities of essential oil and its constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) twigs. *Bioresource Technol* ۲۰۰۸; ۹۹: ۳۹۰۸-۱۳.

Antinociceptive Effects of Ethanolic Extract of *Salvia aethiopsis* in NMRI Mice

Eidi A *

Department of Biology, Tehran Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: ۱۷ Aug ۲۰۱۳

Accepted: ۱۲ Dec ۲۰۱۳

Abstract

Background & aim: Herbal medicine has been used to relieve pain around the world for many years. The aim of this study was to evaluate the analgesic effect of ethanol extract on the aerial parts of *Salvia aethiopsis* in NMRI mice.

Methods: In the present experimental study, ۱۲۶ mice (NMRI) were randomly selected and used for formalin, hot plate and acetic acid test. In every experiment there were seven groups of six mice. The rats were administrated with *Salvia aethiopsis* extract at concentrations of (۱, ۱۰, ۵۰ and ۱۰۰ mg/kg body wt.) or morphine at concentration of (۱۰ mg/kg body wt.) as the standard drug. The intact animals were used as controls and the control group was treated with saline. In the formalin test, formalin was injected into the dorsal surface of the right paw. The animals were observed for ۴۵ min after injection of formalin and pain scores were recorded. After formalin injection, the pain rated from ۰ to ۵ min (early phase) and ۱۵-۴۵ min (second phase) were counted. In hot plate test, rats were placed on an aluminum hot plate kept at a temperature of $۵۵ \pm ۰,۵^{\circ}\text{C}$ for a maximum time of ۳۰ s. Reaction time was recorded when the animals licked their fore and hind paws and jumped at ۰ and ۱۵, ۳۰, ۴۵ and ۶۰ min after intraperitoneal administration of the extract. In acetic acid experiment, the induced pain was counted by acetic acid administration. The number of abdominal constrictions induced by acetic acid were subsequently counted. The analgesic activity of the abdominal contractions were inhibited. The data were analysis by of one-way ANOVA test.

Results: The results showed that the extract decreased only the second phase of formalin-induced pain ($p < ۰,۰۵$). the extract reduced the cramps induced by acetic acid ($p < ۰,۰۵$). In the hot plate test, the ethanolic extract was able to increase the pain threshold during ۶۰ min.

Conclusion: The present data indicated that this plant had an antinociceptive effect on the mice, but more research is needed to clarify the mechanism of action of the analgesic effect of ethanolic extract of *Salvia aethiopsis*.

Key words: Analgesia, Mice, Pain, *Salvia aethiopsis*

*Corresponding Author: Eidi A, Department of Biology, School of Basic Sciences, Tehran Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

E-mail: eidi@srbiau.ac.ir