● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل، سال اول، شمارهٔ ۳، صفحه ۴۲ الی ۵۱ ، تابستان ۱۳۷۸

اثر ضددردی عصاره گیاه آنیسون به روش Tail-Flick و فرمالین در موش سوری

دکتر محمودرضا حیدری [۱]، دکتر علی اسدی‌پور [۲]، دکتر غلامرضا سپهری [۳]،
دکتر نفیسه عطاپور [۴]، دکتر فاطمه اسماعیل‌زاده [۵]

خلاصه

سابقه و هدف: بعضی از گیاهان در طب سنتی بعنوان ضد درد مصرف می‌شوند. هدف از این مطالعه، ارزیابی اثرات ضددردی عصاره گیاه آنیسون (Pimpinella Anisun) است، که بطور سنتی برای رفع سردردهای عصبی، دردهای شکمی و موارد دیگر بکار می‌رود.

مواد و روش ها: عصاره سوکسله و پرکوله میوهٔ این گیاه با دوزهای مختلف بصورت داخل صفاقی (IP) به موش سوری تزریق و اثر ضد دردی با روشهای Tail-flick و Formalin-Test اندازه‌گیری شد.

یافته ها: نتایج حاصل نشانگر این است که عصاره حاصل از روش سوکسله در تست Tail-Flick در تمامی دوزهای تزریق شده (۲۰۰mg/kg، ۱۰۰، ۵۰ و ۲۵) قادر به اعمال اثر ضددردی معنی‌دار در تمامی زمانهای مورد بررسی نسبت به گروه شاهد بوده است ($p<0/01$). دوز ۵۰mg/kg از بین این دوزهای تزریق شده بیشترین اثر ضددردی را اعمال کرد و این اثر ۴۵ دقیقه بعد از تزریق عصاره به حداکثر رسید. مقایسهٔ اثر ضددردی عصاره با A.S.A در زمان ۱۵ ($p<0/01$) و در زمان ۳۰ ($p<0/05$) نشان می دهد که اثر ضد دردی A.S.A بیشتر از عصاره بوده ولی در زمانهای ۴۵، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ ($p<0/01$) ، عصاره اثر ضددردی بیشتری رانسبت به A.S.A ایجاد نموده است. دوز مؤثر ۵۰mg/kg به روش فرمالین هم امتحان شد و در همهٔ زمانهابه جز دقایق ۵-۰ اثر ضددردی معنی داری ($p<0/01$) نسبت به نرمال سالین ایجاد نموده است. با مقایسه اثر ضددردی دوز مؤثر ۵۰mg/kg با مورفین و A.S.A به روش فرمالین این نتایج حاصل شد که در دقایق ۱۵-۱۰ بعد از تزریق اختلاف معنی‌داری با مورفین وجود نداشت و در ۵ دقیقه اول و دوم با اختلاف معنی‌دار ($p<0/01$) اثر کمتری از مورفین داشت. پیش درمانی حیوانات با نالوکسان تغییر واضحی در اثر ضددردی عصاره ها در دو روش فرمالین وTail flick ایجاد نکرد.

نتیجه گیری: در این تحقیق اثر ضددردی نسبتاً مناسبی از عصاره گیاه آنیسون مشاهده شد که احتمالاً اثر ضددردی عصاره از طریق گیرنده‌های اوپیوئیدی اعمال نمی شود. البته در این زمینه تحقیق بیشتری نیاز است.

واژه‌های کلیدی: گیاهان دارویی ، آنیسون ، سنجش درد ، تست فرمالین ، تستTail-Flick

۱ـ استادیار گروه سم‌شناسی و فارماکولوژی (Ph.D)، دانشکده داروسازی کرمان
۲ـ استادیار گروه شیمی دارویی (Ph.D)، دانشکده داروسازی کرمان
۳و۴ـ استادیار گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی (Ph.D)،دانشکده پزشکی کرمان
۵ـ دکتر داروساز

[DOR: 20.1001.1.15614107.1378.1.3.7.6]

مقدمه

درد همواره از عواملی بوده که بشر را به این فکر واداشته است که برای مقابله با آن در پی راه چاره‌ای باشد و برای دست یافتن به زندگی عاری از درد و رنج تلاشهای فراوانی نموده است. غلبه بر درد بعنوان موضوعی برای تحقیق بسیاری از پزشکان و محققان علوم زیستی بوده و هست. اهمیت تشخیص علت درد نیز در این راستا بسیار مهم است. اما قبل از یافتن علت درد، انسان تنها به فکر تسکین و از بین بردن درد است و سپس به علت آن می‌اندیشد. استفاده از گیاه درمانی از زمانهای قدیم در تمدن‌های باستانی رایج بوده و امروزه نیز گیاه درمانی به صور مختلف اعم از استفاده از فرآورده‌های گیاهی یا عصاره‌های تام آنها در تمام دنیا رایج است و توجه خاصی به گیاه درمانی شده است. در این راستا و با توجه به گسترش تقاضا برای گیاه درمانی ،بررسی و تحقیق در این زمینه ضروری است و نیاز به وسعت و گسترش در این زمینه را می‌طلبد. تحقیقات فراوانی در مورد بررسی اثر ضد دردی عصاره های تام گیاهان در کشورهای مختلف انجام شده است (۵-۱). در حالیکه درکشور ما علیرغم تنوع پوشش گیاهی بدلیل تنوع آب و هوا که یک نعمت خدادادی است، این تحقیقات بسیار اندک بوده و کمتر مورد توجه قرار گرفته است(۷و۶). گیاه آنیسون یا بادیان رومی در طب سنتی مصارف متنوعی داشته و بعنوان ضددرد در سردردهای یکطرفه و عصبی و دردهای معده بکار می‌رود(۹و۸). گیاه آنیسون یا رازیانهٔ رومی یا بادیان رومی از تیرهٔ جعفری یا Umbelliferae می‌باشد (۱۰و۹). مصرف آن موجب تسکین اسپاسمهای معده و روده و از بین رفتن نفخ و بطور کلی دردهای ناشی از انقباض معده و روده که منشأ عصبی داشته باشند، می‌گردد. بعلاوه در رفع سردردهای یکطرفه، سرگیجه، سرفه، آسم و برونشیت اثرات مفیدی دارد. بعلت اسانس آن در رفع بوی بد دهان مؤثر است. اثر زیاد کننده ترشحات شیر دارد و با مصرف آن شیر افزایش یافته و عطر و بوی اسانس آن نیز در شیر وارد می‌شود. در دامپزشکی مصرف فراوان دارد و مخصوصاً به منظور تقویت حرکات دودی شکل روده بکار می‌رود و برای جلوگیری از نفخ و زیاد کردن شیرگاو و دامها مصرف می‌شود (۱۱). دانه‌های آنیسون بعنوان ضد درد در ناراحتی میگرن و نیز بادشکن، معطر کننده، ضدعفونی کننده و مدر مصرف سنتی دارد (۱۱و۹).لذابا توجه به بررسی های انجام شده در منابع اطلاعاتی و مطالب ذکر شده در آنها که به بعضی از آنها اشاره شد، این احتمال که گیاه آنیسون دارای خاصیت ضد دردی باشد وجود دارد و بنظر می رسد که برای مطالعه اثر ضد دردی مناسب باشد(۳).

دراین تحقیق اثر ضددردی این گیاه با آزمون Tail flickکه یک روش حرارتی (۷) سنجش درد و آزمون فرمالین که یک روش شیمیایی (۱۲)سنجش درد می باشد، در موش سوری بررسی شده است.

مواد و روشها

جمع‌آوری و خشک کردن گیاه :

میوهٔ گیاه آنسیون در فصل تابستان از اطراف شهبازان کرمان جمع‌آوری شده و توسط گیاهشناس شناسایی و نامگذاری علمی گردید. بهترین زمان جمع‌آوری این گیاه در ماههای تیر و مرداد می‌باشد(۱۱).

تهیهٔ عصاره گیاهی:

۱- روش پرکولاسیون؛ ۵۰ گرم پودر آنیسون را داخل بشر بزرگی ریخته و به آن متانول ۸۰٪ افزوده می‌شود. پس از مدت ۲۴ ساعت محلول به درون پرکولاتور منتقل و بر روی آن یک کاغذ صافی همراه با یک قطعه شیشه گذاشته می‌شود پس از اضافه نمودن متانول ۸۰٪ بعنوان حلال، شیر پرکولاتور تا حدی که سرعت جریان حلال ۳-۲ قطره در دقیقه باشد باز می‌شود پس از اطمینان از پایان عمل پرکولاسیون (حدود۷۲ ساعت بعد) عصاره با استفاده از دستگاه تغلیظ در خلاء، غلیظ شده و در داخل

[DOR: 20.1001.1.15614107.1378.1.3.7.6]

آون با حرارت ۴۰ درجه سانتیگراد قرار می‌گیرد تا عصاره کاملاً خشک شود(۱۳).

۲ ـ روش سوکسله: ۵۰ گرم پودر آنیسون را داخل پارچه یا کاغذ صافی که سوراخهای بسیار ریز دارد قرار داده می‌شود سپس حلال مورد نظر را در فلاسک ریخته و درجه حرارت مطابق نقطه جوش حلال تنظیم می‌شود. حلال بخار شده در طول لوله بالا می‌رود. بخار حلال که توسط آب سرد خنک شده، مایع می‌شود و به صورت قطراتی وارد پودر خام می‌شود. وقتی سطح حلال به سیفون رسید حلال بطور اتوماتیک تخلیه می‌شود و وارد فلاسک جمع‌آوری می‌گردد. این جریان بطور مرتب تا ۴ساعت انجام شده تا عمل استخراج کامل شود. عصاره پس از تغلیظ بایستی در آون خشک شود(۱۳).

تهیه محلول های تزریقی عصاره:

پس از خشک شدن کامل عصاره، مقداری از آن وزن و درحجمی معین‌از نرمال سالین حل شده تا غلظتهای موردنظر برای تزریق به حیوانات حاصل شود. محلول حاصل از حل عصاره در نرمال سالین یک محلول شفاف است. در این تجربه محلولهای با غلظتهای متفاوت به میزان ml/kg ۱۰ به صورت داخل صفاقی به حیوانات تزریق گردید.

دوزهای به کار برده شده در این تجربه شامل mg/kg ۱۰۰,۲۰۰ ,۲۵,۵۰بوده است. به گروه کنترل منفی نرمال سالین ml/kg ۱۰ و به گروه کنترل مثبت مرفین با دوز mg/kg ۲/۵و A.S.A (mg/kg ۳۰۰) تزریق شده است. به منظور بررسی نقش گیرنده های اوپیوئیدی در اثر ضددردی عصاره، نالوکسان با دوز mg/kg ۴, ۵ دقیقه قبل از تزریق عصاره به صورت S.C (زیر جلدی) تزریق شد.

انجام تست‌های فارماکولوژیک:

حیوان مورد آزمایش

در این تجربه از موش سوری نر با وزن تقریبی ۲۵-۲۰ گرم استفاده شد. حیوانات در دسته‌های ۳۰-۲۰ عددی نگهداری شده که دارای سیکل نوری ۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی بودند. غذای آنها ساخت کارخانهٔ خوراک دام پارس بود. موشها ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش به محل آزمایشگاه منتقل شده و به آب و غذا دسترسی داشتند و یک ساعت مانده به آزمایش، وزن شده و در قفسهای مجزا، شماره‌گذاری شده و بدون آب و غذا نگهداری می‌شدند. حرارت آزمایشگاه ۱±۲۲ درجه سانتیگراد، در طول آزمایشات ثابت بود.

تست (Tail-flick):

دستگاه استفاده شده ساخت شرکت پویای ارمغان مشهد بوده و محرک حرارتی آن اشعه‌ای از لامپ Osram (6460) Bllaphot بوده و برای سنجش (Tail-flick ((TFL)) Latency- استفاده شده است. حیوان در محفظه مخصوص Mice Holder یا Restainer قرار گرفته و پس از حذف حرکات اضافی با فشار پدال دستگاه، اشعه شروع به تابش کرده و به محض مشاهده حرکات دم تابش اشعه را متوقف ساخته و طول مدت تابش اشعه یادداشت می‌شد. حداکثرمحدوده زمانی که محرک آسیب‌رسان بر روی دم حیوان اعمال می‌شد (زمان Cut off) معادل ۱۰ ثانیه در نظر گرفته شده است. چون افزایش تحریک، بیشتر از این زمان باعث ضایعه بافتی و اختلال در نتایج می‌شود. به جهت افزایش دقت، تحریک به محلهای متوالی از انتها تا ابتدای دم، اعمال گردید(۷).

روش انجام کار

زمان اولیه پاسخ به تحریک قبل از تزریق عصاره در حیواناتیکه بمدت یک ساعت در قفسهای جداگانه بوده، اندازه‌گیری و بعنوان لحظه صفر یا Control Latency در نظر گرفته شد. سپس عصاره به صورت IP یا داخل صفاقی تزریق شده و Latency در زمانهای ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ دقیقه پس از آن اندازه‌گیری گردید. در این

[DOR: 20.1001.1.15614107.1378.1.3.7.6]

تحقیق دوزهای ۲۰۰mg/kg، ۱۰۰، ۵۰ و ۲۵ از عصاره سوکسله ۵۰ ,mg/kg از عصاره پرکوله، نرمال سالین به میزان ۱۰ml/kg و A.S.A بمیزان ۳۰۰mg/kg و مورفین بمیزان ۲/۵mg/kg به حیوانات تزریق شد. موشهای مورد آزمایش در هر گروه و شاهد ۷ عدد بودند. گروه شاهد فقط حامل عصاره یعنی نرمال سالین دریافت کردند. اثر ضددردی با تعیین Analgesia Index مشخص شده که با استفاده از فرمول ذیل،محاسبه گردید.

$$\text{Analgesia Index} = \frac{\text{test latency - control latency}}{\text{cut off(10sec) - control latency}} \times 100$$

latency = فاصله زمانی از لحظه تابش اشعه گرمازای دستگاه تا جمع کردن و گریز دم حیوان از مسیر تابش

Cut off = حداکثر مجاز تابش اشعهٔ گرمازابه دم حیوانات (۷)

تست فرمالین (Formalin Test):

این تست، یکی از تستهای استاندارد در مورد اندازه‌گیری پاسخ در برابر درد است. در این روش حیوان در جایگاه مخصوصی که شامل یک چهارپایه آلومینیومی می‌باشد و روی آن صفحه شیشه‌ای قرار دارد مستقر می‌گردد. بر روی صفحه شیشه‌ای قیف دهان گشادی به قطر ۲۰ سانتیمتر وجود دارد که حیوان در زیر قیف و روی صفحه شیشه‌ای قرار می‌گیرد. در فاصله‌ای از صفحه شیشه‌ای و سطح افق آینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه قرار گرفته است که مشاهدات را آسان‌تر می‌کند. قبل از هر آزمایش به منظور تطبیق حیوان با محیط جدید، ۱۵ دقیقه زیر قیف شیشه‌ای قرار می‌گیرد. پس از این زمان، حیوان آماده تزریق می‌باشد. محلول تزریقی فرمالین ۰/۵ درصد به میزان ۲۵ میکرولیتر بعنوان عامل ایجاد کننده درد بکار می‌رود. این محلول بصورت زیرجلدی به کف پای راست حیوان تزریق می‌شود و بلافاصله پس از تزریق، مجدداً به زیر قیف شیشه‌ای منتقل شده و پاسخ در برابر درد در محدوده زمانی ۳۰ دقیقه ثبت می‌شود. برای مقایسه از محلول نرمال سالین بعنوان شاهد استفاده می‌شود. پاسخ در برابر درد عبارت است از مجموع زمانهایی (بر حسب ثانیه) که صرف تکان دادن، لیسیدن یا گاز گرفتن پای تزریق شده می‌شد. این زمانها هر ۵ دقیقه اندازه‌گیری شده و مقدار عددی آن معرف میزان درد ایجاد شده در نتیجه تزریق فرمالین به کف پای حیوان بحساب آمد(۱۴و۱۲).

روش آنالیز آماری

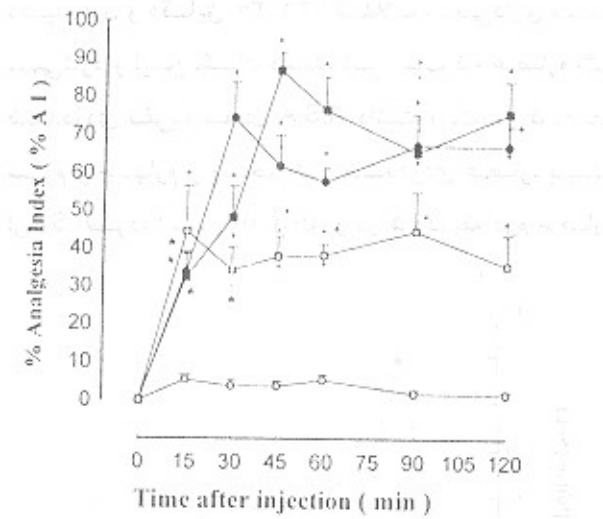
در هر سری از آزمایشات، اثر دوزهای مختلف بصورت میانگین و انحراف معیار Mean±SEM در ۷ موش ثبت گردید. جهت تعیین وجود اختلاف معنی‌دار میان گروههایی که غلظتهای متفاوت عصاره، حامل، مورفین و A.S.A را دریافت کرده بودند، از آنالیز واریانس ANOVA و بدنبال آن متد Newman-keuls استفاده شد و اختلاف با $P<0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شده است (۱۲و۷).

یافته ها

الف) اثر ضددردی عصاره متانولی حاصل از روش سوکسله گیاه آنیسون به روش Tail flick؛

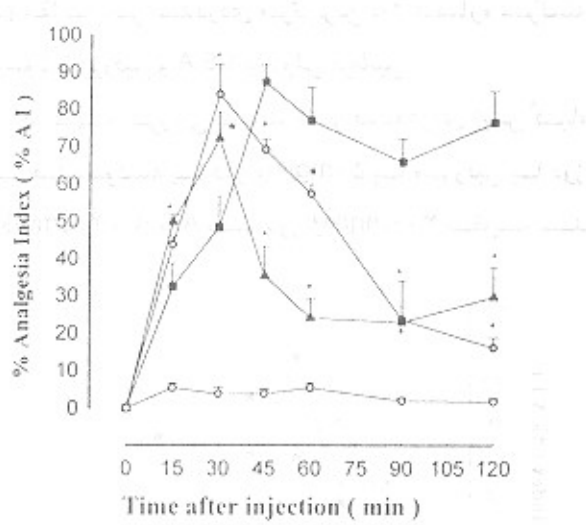
اثر ضددردی عصاره متانولی حاصل از روش سوکسله با دوزهای ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم سنجیده شد. عصاره فوق تقریباً در تمامی زمانها پاسخ ضددردی معنی‌داری را در مقایسه با نرمال سالین ایجاد کرد ($P<0/01$). دوز ۵۰mg/kg عصاره فوق بیشترین اثر ضددردی را ایجاد نمود ($P<0/01$) و حداکثر اثر ضددردی ۴۵ دقیقه پس از تزریق عصاره مشاهده گردید ($P<0/01$) (شکل ۱).

[DOR: 20.1001.1.15614107.1378.1.3.7.6]



شکل ۱. رابطه اندکس ضد دردی دوزهای مختلف عصاره سوکسله آنیسون بر حسب زمان در موش سوری با روش Tail Flick

(به موشها مقدار ۱۰ml/kg نرمال سالین (○) یا عصاره سوکسله آنیسون با دوزهای (●، صفاقی تزریق گردیده است. ۲۵ mg/kg)، (■، ۵۰ mg/kg)، (▲، ۱۰۰mg/kg) یا (□، ۲۰۰mg/kg) بصورت داخل هر نقطه نمایانگر میانگین ± میانگین خطای معیار اندکس ضد دردی در ۷ موش می‌باشد. *، p<۰/۰۵ و +، p<۰/۰۱؛ اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه نرمال سالین).



شکل ۲. رابطه اندکس ضد دردی عصاره‌های پرکوله و سوکسله آنیسون بر حسب زمان در موش سوری با روش Tail Flick

(به موشها مقدار ۱۰ml/kg نرمال سالین (○) یا دوز ۵۰mg/kg از عصاره سوکسله (■) یا پرکوله (□) آنیسون تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین ± میانگین خطای معیار اندکس ضد دردی در ۷ موش می‌باشد. *، p<۰/۰۵ و +، p<۰/۰۱؛ اختلاف معنی‌دار نسبت به عصاره پرکوله).

ب) مقایسه پاسخ ضددردی عصاره متانولی حاصل از روش سوکسله آنیسون با عصاره متانولی حاصل از روش پرکوله با آزمون Tail flick؛

نتایج حاصل نشان دهنده اثر ضددردی بالاتر عصاره حاصل از روش سوکسله نسبت به دوز مشابه از عصاره حاصل از روش پرکوله در دقیقه ۴۵ می‌باشد (P<۰/۰۱) (شکل ۲).

ج) مقایسه پاسخ ضددردی مؤثرترین دوز عصاره سوکسله آنیسون با مورفین و A.S.A *به روش* Tail-flick؛

دوز ۵۰mg/kg عصاره در زمان ۱۵ دقیقه پس از تزریق اختلاف معنی‌داری نسبت به مورفین ایجاد نکرده است لذا نشانگر وجود اثر ضددردی مناسب ودر حد مورفین است. در دقیقه‌های ۴۵، ۹۰ و ۱۲۰ پس از تزریق، عصاره اثر ضددردی بیشتری نسبت به مرفین ۲/۵mg/kg ایجاد نموده است(P<۰/۰۱). همچنین در مقایسه با A.S.A با دوز ۳۰۰mg/kg در زمان ۱۵دقیقه(P<۰/۰۱) و در زمان ۳۰ دقیقه (P<۰/۰۵) پس از تزریق اثر ضددردی A.S.A بیشتر از عصاره بوده ولی در دقایق ۴۵، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰، عصاره اثر ضددردی بیشتری نسبت به A.S.A ایجاد نموده‌است (P<۰/۰۱)(شکل ۳).

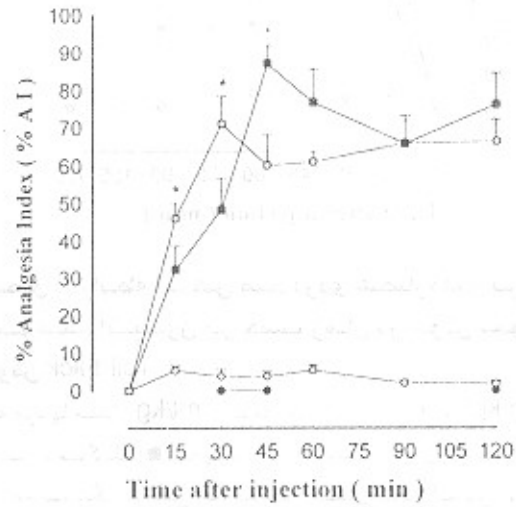
د) اثر ضددردی عصاره متانولی حاصل از روش سوکسله آنیسون به روش فرمالین؛

همانطورکه در شکل ۴ مشخص است دوز ۵۰mg/kg عصاره سوکسله آنیسون غیراز دقایق ۵-۰ در بقیه زمانها با P<۰/۰۱ عصاره نسبت به نرمال سالین اثر ضددردی معنی‌داری ایجاد نموده است.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1378.1.3.7.6]

هـ) مقایسه اثر ضددردی مؤثرترین دوز عصاره سوکسله آنیسون با مورفین و A.S.A به روش فرمالین؛

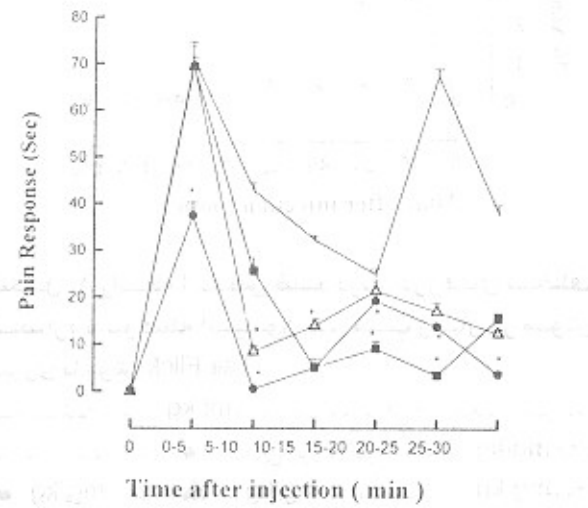
جهت بررسی بیشتر اثر ضددردی این گیاه عصارهٔسوکسله با دوز ۵۰mg/kg با مورفین با دوز ۲/۵mg/kg و A.S.A با دوز ۳۰۰mg/kg مقایسه شد



شکل ۳. رابطه اندکس ضد دردی مؤثرترین دوز عصاره سوکسله آنیسون و آسپرین و مرفین بر حسب زمان در موش سوری با روش Tail Flick

(به موشها مقدار ۱۰ml/kg نرمال سالین (○) یا دوز ۵۰mg/kg از عصاره سوکسله (■) یا استیل سالی سیلیک اسید ۳۰۰mg/kg(▲)یا مرفین ۲/۵mg/kg (●) تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین ± میانگین خطای معیار اندکس ضد دردی در ۷ موش می‌باشد. *، p< ۰/۰۵ و +، p<۰/۰۱؛ اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه عصاره)

و این نتایج بدست آمد. در دقایق ۱۵-۱۰ بعد از تزریق اختلاف معنی‌داری بین عصاره و مورفین وجود ندارد و این موضوع بیانگر آن است که عصاره گیاه در دقایق فوق اثر ضددردی مناسب و در حد مورفین داشته است و در دقایق ۲۰-۱۵ و ۲۵-۲۰ اثر ضددردی عصاره بیشتر از مورفین بوده‌است (P<۰/۰۱).ولی در ۵ دقیقه اول و دوم عصاره اثر کمتری نسبت به مورفین داشته است (P<۰/۰۵). در مقایسه عصاره سوکسله با A.S.A ، در ۵ دقیقه اول و دقایق ۳۰-۲۵ اختلاف معنی‌داری دیده نمی‌شود و این نشان دهنده این است که عصاره اثر ضددردی تقریباً معادل A.S.A داشته است. در ۵ دقیقه سوم و چهارم و پنجم اثر ضددردی عصاره بیشتر ازA.S.Aبوده است (p<0.01) و در ۵ دقیقه دوم عصاره



شکل ۴ . رابطهٔ اثر ضد دردی عصاره سوکسله آنیسون با مرفین و استیل سالی سیلیک اسید بر حسب زمان در موش سوری با تست فرمالین

(به هر گروه از موشها نرمال سالین به میزان (○، ۱۰ml/kg) یا دوز ۵۰mg/kg از عصاره سوکسله (■) آنیسون یا مرفین ۲/۵mg/kg (●) یا استیل سالی سیلیک اسید ۳۰۰mg/kg (▲) به صورت داخل صفاقی، ۱۵ دقیقه قبل از فرمالین تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین ± خطاهای معیار مدت زمان پاسخگویی به اثر دردزائی فرمالین در ۷ موش می‌باشد. + ، p<۰/۰۱؛ اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه عصاره)

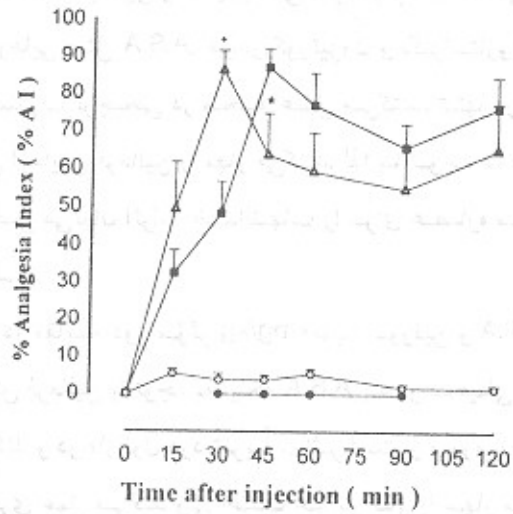
اثر ضددردی کمتری با P< ۰/۰۱ نسبت به A.S.A ایجاد کرده است (شکل ۴).

و) مقایسه اثر ضددردی مؤثرترین دوز عصاره متانولی سوکسله در حضور نالوکسان؛

ابتدا به موشها نالوکسان به میزان ۴mg/kg بصورت S.C در ناحیه پشت حیوان تزریق گردید و بعد از گذشت ۵ دقیقه عصاره گیاهی بادوز۵۰mg/kg بصورت داخل صفاقی تزریق

[DOR: 20.1001.1.15614107.1378.1.3.7.6]

شد. درآزمون Tail-Flick نالوکسان باعث مقداری کاهش در اثر ضددردی عصاره شده(شکل ۵) که فقط در دقیقه ۴۵ معنی‌دار است ($P<0/01$) و در تست فرمالین هیچ تغییری در اثر ضد دردی عصاره ایجاد نشده است (شکل ۶).

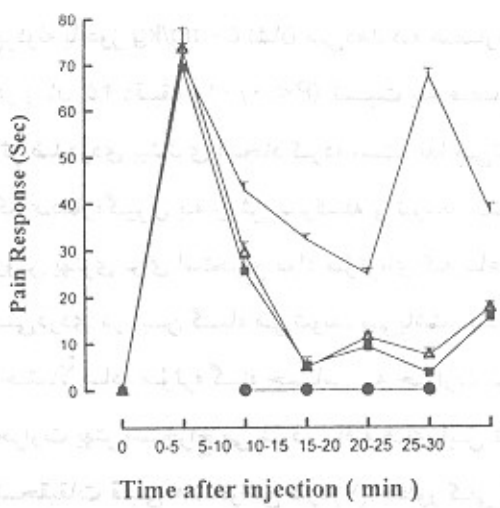


شکل ۵. رابطه اندکس ضد دردی مؤثرترین دوز عصاره سوکسله آنیسون در حضور نالوکسان بر حسب زمان در موش سوری با روش Tail Flick

(به موشها مقدار ۱۰ml/kg نرمال سالین (○) یا دوز ۵۰mg/kg از عصاره سوکسله آنیسون (■) یا دوز ۵۰mg/kg از عصاره سوکسله ۵ دقیقه پس از تزریق زیر جلدی ۴mg/kg نالوکسان (▲)، به صورت داخل صفاقی تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین ± میانگین خطای معیار اندکس ضد دردی در ۷ موش می‌باشد. *، $p<0/05$ و + ، $p<0/01$؛ اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه عصاره.)

بحث

در این تحقیق اثر ضددردی گیاه آنیسون مورد بررسی قرار گرفته است. آنیسون یا Pimpinella anisun در طب سنتی بعنوان ضددرد در سردردهای میگرنی و یکطرفه و ضد نفخ و تسکین دهندهٔ اسپاسم‌های معدی (۱۱و۹و۸) بکار می‌رود. در این مجموعه اثرات ضددردی عصاره آنیسون که به روشهای پرکوله و سوکسله تهیه شده و در موش سوری نر (albino) با تست Tail-flick و فرمالین بررسی شده است. این مطالعه نشان داد که در صورتی که میوه گیاه آنیسون با روش سوکسله توسط متانول ۸۰٪ عصاره گیری شود، قادر است در دوزهای مختلف اثرات ضددردی متفاوتی را ایجاد کند. این عصاره در تمامی دوزهای تزریق شده قادر به ایجاد پاسخ ضددردی است و اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه شاهد ایجاد می‌کند. دوزهای تزریق شده در این تحقیق، ۲۰۰mg/kg، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵ بوده است که دوز ۵۰mg/kg دارای بیشترین اثر ضددردی بوده‌است این دوز قادر است ۴۵ دقیقه



نمودار ۶: رابطهٔ اثر ضد دردی عصاره سوکسله آنیسون در حضور نالوکسان بر حسب زمان در موش سوری با تست فرمالین

(به هر گروه از موشها نرمال سالین به میزان (○، ۱۰ml/kg) یا دوز ۵۰mg/kg از عصاره سوکسله (■) یا دوز ۵۰mg/kg از عصاره سوکسله آنیسون، ۵ دقیقه پس از تزریق زیر جلدی ۴mg/kg نالوکسان (▲)، به صورت داخل صفاقی ۱۵ دقیقه قبل از فرمالین تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین ± خطاهای معیار مدت زمان پاسخگویی به اثر دردزائی فرمالین در ۷ موش می‌باشد.)

بعد از تزریق حداکثر اثر ضددردی را نشان دهد($p<0/01$). در این زمان عصاره به پیک غلظتی مناسب برای اثر رسیده است. A.S.A و مورفین بدلیل اینکه هر دو بعنوان ضددرد در بازار دارویی ایران موجود

[DOR: 20.1001.1.15614107.1378.1.3.7.6]

هستند از آنها برای مقایسه با اثر ضددردی عصاره استفاده شده است. مقایسه عصاره سوکسله ۵۰mg/kg و A.S.A با دوز ۳۰۰mg/kg و مورفین ۲/۵mg/kg در روش - Tail Flick نتایج نشان می دهد که عصارهٔ آنیسون در زمان ۱۵ نسبت به مورفین تفاوت معنی‌دار نداشته و از آنجا که مورفین شاهد مثبت است هر قدر اختلاف با مورفین کمتر باشد بیانگر این است که اثر ضد دردی عصاره بیشتر بوده و به مورفین نزدیکتر است. مقایسه همین دوز عصاره با A.S.A نشان داد که عصاره نظیر A.S.A قادر به مهار فاز دوم درد می‌باشد. مقایسه اثر ضددردی عصاره سوکسله و پرکوله با دوز ۵۰mg/kg نشان می‌دهد که عصاره سوکسله در زمان ۴۵ دقیقه ($P< ۰/۰۱$) نسبت به عصاره پرکوله اثر ضددردی بیشتری ایجاد کرده است. لذا می‌توان گفت که عصاره‌گیری به روش سوکسله و توسط متانول ۸۰٪ روش بهتری برای استخراج مواد مؤثره‌ای که باعث ایجاد بی‌دردی در این گیاه می‌شوند، می‌باشند. بدلیل اینکه احتمالاً ماده مؤثره گیاه حساس به حرارت نبوده و با حرارت بهتر استخراج می شود. یافته های این تحقیق با تحقیقات قبلی همخوانی دارد(۷). بطور کلی استخراج مواد مؤثرهٔ گیاهی از اندامهای سخت گیاهان نظیر میوه و دانه با روش سوکسله بهتر صورت می گیرد(۱۳و۷و۴). در روش فرمالین تزریق دوز ۵۰mg/kg و مقایسه آن با نرمال سالین نشان داد که این عصاره قادر به مهار درد در فاز اول یعنی در ۵ دقیقه اول نبوده ولی عصاره فاز دوم درد را که مربوط به التهاب ناشی از عامل دردزا بوده(۶)، مهار کرده و بصورت محیطی عمل نموده است.

درد ایجاد شده در آزمایش فرمالین دارای دو فاز مشخص است که فاز اول احتمالاً نتیجه تحریک مستقیم گیرنده‌های درد در پنجهٔ پای حیوان می‌باشد در حالی که در فاز دوم تا حد زیادی درد ناشی از فرآیند التهاب است (۱۴و۱۲). هرچند نقش حساس شدن مسیرهای مرکزی درد را نیز نباید از نظر دور داشت. این آزمایش برای بررسی مکانیسم درد و مواد ضد درد نیز بسیار مفید می‌باشد. داروهایی مانند ضد دردهای مخدر که اغلب به طور مرکزی عمل می‌کنند ،هر دو فاز درد ایجاد شده توسط فرمالین را مهار می‌نمایند (۶). در حالی که داروهایی مثل A.S.A، هیدروکورتیزون و دگزامتازون که به صورت ترجیحی در محیط عمل می‌کنند، تنها درد فاز دوم آزمایش فرمالین را مهار می‌کنند. لذا با توجه به نتایج حاصل می‌توان اثرات ضدالتهاب را برای عصاره محتمل دانست.

در مقایسه دوز مؤثر ۵۰mg/kg با مورفین و A.S.A در روش فرمالین با توجه به اینکه A.S.A بطور محیطی عمل می‌کند و در فاز اول درد تقریباً بی‌اثر است و مورفین بطور مرکزی عمل می‌کند ولی اغلب هر دو فاز را مهار می‌کند (۱۵و۶)، می‌توان چنین گفت که عصاره بطور مرکزی عمل نکرده و اثر ضددردی خود را از طریق محیطی اعمال می‌کند.

در تست Tail-Flick اثر ضددردی تقریباً ۴۵ دقیقه پس از تزریق عصاره در هر یک از دوزها ایجاد می‌شود که این زمان لازم برای رسیدن ماده مؤثره به غلظت خونی مناسب می‌باشد و پس از گذشت مدتی کاهش در اثر ضددردی مشاهده می‌شود (دقیقه ۶۰) و مجدداً افزایش در اثر ضددردی در دقیقه ۹۰ دیده می‌شود. کاهش در دقیقه ۶۰ احتمالاً به علت شروع فاز دفع و متابولیزه شدن ماده مؤثره می‌باشد و افزایش در دقیقه ۹۰ احتمالاً به علت تولید متابولیت‌های فعال می‌باشد. از دقیقه ۹۰ به بعد اثر بطور کامل شروع به افت کرده که به علت دفع مادهٔ مؤثره می‌باشد.

نالوکسان که یک آنتاگونیست گیرنده اوپیوئیدی است قبل از عصاره به موش تزریق شد و هیچ تغییری در پاسخ موشها نسبت به قبل مشاهده نشد. از آنجا که اثر ضددرد

[DOR: 20.1001.1.15614107.1378.1.3.7.6]

عصاره در هیچ کدام از فازهای درد حاد و مزمن توسط نالوکسان ممانعت نشد، این تصور قوت می‌گیرد که سیستم اوپیوئیدی احتمالاً در بی‌دردی ایجاد شده توسط عصاره نقشی ندارد. در خاتمه می‌توان نتیجه‌گیری کرد که عصاره آنیسون می‌تواند به عنوان یک داروی ضددرد مطرح باشد البته استفاده از آن بعنوان یک داروی تسکین دهندهٔ درد نیاز به اطلاعات کلینیکی بیشتری دارد. مواد مؤثره ضددرد این گیاه و نحوه عمل آنها و همچنین سمیّت آنها هنوز ناشناخته است که زمینه تحقیق بیشتری را می‌طلبد.

****

References

1. Biswas AR, Ramswamy S, Bapna JS. Analgesic effect of Momordica Charantia seed extract in mice and rats. J Ethnopharmacol 1991; 31: 115-118

2. Cakci I, Ulug HY, Inci S, Tunctan B, Abacioglu N, Kanzik I, Sener B. Antinociceptive effect of some amaryllidaceae plants in mice. J Pharm Pharmacol 1997; 49: 828-830

3. Elisabetsky E, Castilhos ZC. Plants used as analgesic by amazonian caboclos as a basis for selecting plants for investigation. Int J Crude Drug Res 1990; 28(4): 309-320

4. Islam MW, Zakaria MN, Radhakrishnon R, Habibullah M, Ghan K. Evaluation of analgesia activity of the aerial parts of portulaca oleracea, V. sativa and its comparison two related speciess" J pharm pharmacol 1998; 50 suppl: 226.

5. Trentin AP, Santose ARS, Miguel OG, Pizzolatti MG, Yunes RA, Calixto JB. Mechanisms involved in the antinociceptive effect in mice of the hydroalcoholic extract of siphcamphylus verticillatus. J Pharm Pharmacol 1997; 49: 567-572

۶- احمدیانی ا، سمنانیان س، فریدونی م. مهار درد حاد و مزمن با عصاره الکلی ریزوم گیاه آقطی در موش صحرایی. مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران، جلد ۱، شمارهٔ ۲، پاییز و زمستان ۱۳۷۶؛ ص ۱۲۷-۱۲۳.

۷- حیدری م ر، شریفی‌فر ف، اورنگی ب، سلمانی م. بررسی اثر ضددردی عصاره هیدروالکلی زنجبیل و فلفل سیاه به روش Tail-flick در موش سوری. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ چهارم، شماره ۳، تابستان ۱۳۷۶؛ ص ۱۱۱-۱۰۷.

۸- امین غ. گیاهان دارویی سنتی ایران. جلد اول، مؤسسه پژوهشهای گیاهان دارویی ایران، ۱۳۷۰، ص ۸۷.

۹- آئینه چی ی. مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران. انتشارات دانشگاه تهران، چاپ دوم، ۱۳۷۰؛ ص ۳۳۴ و ۱۰۷۹.

۱۰- مظفریان و. فرهنگ نامهای گیاهان ایران، فرهنگ معاصر. ۱۳۷۵؛ ص ۴۱۴-۴۱۲.

۱۱- زرگری ع. گیاهان دارویی، جلد دوم، انتشارات دانشگاه تهران، چاپ پنجم، مهر ۱۳۷۰؛ ص ۴۷۴.

12. Heidari MR, Khalili F, Ghazi-Khansari M,Hashemi B, Zarrrindast MR. Effect of picrotoxin on antinocieption in the formalin test. J. Pharmacol & Toxicol 1996; 78(5): 313-316.

۱۳- صمصام شریعت س ه. عصاره گیری و استخراج مواد مؤثره گیاهان دارویی و روشهای شناسایی و ارزشیابی آنها،

[DOR: 20.1001.1.15614107.1378.1.3.7.6]

انتشارات مانی، ۱۳۷۱؛ ص ۲۱-۱۰.

14. Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, Inoki R,Modified formalin test, charactristic biphasic pain response. Pain 1989; 38: 347-52.

15. Basbaum AI, Fields L. Endogenous pain conlrnod system Brainstem spinal pathways and endorphin circuitry. Annual Reviews in Neuroscience 1984; 7:309-38

[DOR: 20.1001.1.15614107.1378.1.3.7.6]