

اثر ضد دردی و مکانیسم احتمالی عصاره متانولی گیاه سورنجان کرمانی در موش سوری

محمودرضا حیدری^{۱*}، مهرداد واحدیان^۲، سارا مؤمن زاده^۳، محمدمهدی حیات بخش عباسی^۴

پذیرش: ۸۳/۱۲/۱۲

بازنگری: ۱۳۸۳/۹/۲۱

دریافت: ۱۳۸۳/۲/۱

خلاصه

سابقه و هدف: برخی گیاهان در طب سنتی، به عنوان تسکین دهنده درد استفاده می‌شوند. هدف از این پژوهش بررسی اثر ضد دردی گیاه سورنجان کرمانی یا گل حسرت بود که در طب سنتی و تجربی به عنوان ضد درد توصیه شده است.

مواد و روش‌ها: نمونه گیاهی از نواحی اطراف کرمان (جوپار) جمع‌آوری و توسط گیاه‌شناس شناسایی و نام‌گذاری شد. پیاز خشک شده گیاه، پودر و به روش پرکوله عصاره‌گیری و توسط دستگاه تقطیر در خلاء و آون تا حد خشک شدن تغلیظ گردید. عصاره متانولی پرکوله گیاه با دوزهای مختلف به صورت داخل صفاقی، به موش‌های سوری سفید بالغ نر در محدوده وزنی ۲۵-۲۰ گرم تزریق و اثر ضد دردی آن با آزمون‌های هات‌پلیت (Hot plate) و فرمالین بررسی گردید.

یافته‌ها: در آزمون هات‌پلیت اثر ضد دردی دوزهای مختلف عصاره با گروه کنترل تفاوت معنی‌دار داشت ($p < 0/01$). در بررسی دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره، عوارض سمی مانند اسهال و خواب‌آلودگی در موش‌ها مشاهده شد. در آزمون فرمالین دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره در زمان‌های ۱۵-۱۰ دقیقه به بعد، اثر ضد دردی قابل ملاحظه‌ای نسبت به گروه کنترل ایجاد نمودند (به ترتیب $p < 0/05$ و $p < 0/01$). در آزمون فرمالین تفاوت معنی‌داری بین اثر ضد دردی دوز ۱۰۰ mg/kg عصاره، مرفین و آسپرین در فاز مزمن مشاهده نشد. در آزمون هات‌پلیت در زمان‌های ۱۵ و ۳۰ دقیقه پس از تزریق، اثر ضد دردی عصاره کمتر از مرفین ($p < 0/01$) و در مقایسه با آسپرین، اثر ضد دردی عصاره در زمان‌های ۱۵ دقیقه پس از تزریق، کمتر از آسپرین ($p < 0/01$) بود، اما در زمان ۶۰ دقیقه پس از تزریق، بیشتر از آسپرین ($p < 0/05$) بود. پیش‌درمانی حیوان‌ها با نالوکسان باعث کاهش اثر ضد دردی عصاره در همه زمان‌ها ($p < 0/01$) به جزء ۱۵ دقیقه در آزمون هات‌پلیت شد و در آزمون فرمالین به جزء زمان‌های ۱۰-۵، ۱۵-۱۰ و ۳۰-۲۵ دقیقه اثر ضد دردی عصاره در بقیه زمان‌ها کاهش معنی‌داری پیدا کرد ($p < 0/01$).

نتیجه‌گیری: در این پژوهش اثر ضد دردی مناسبی از عصاره سورنجان کرمانی در آزمون‌های هات‌پلیت و فرمالین مشاهده گردید و احتمال دخالت گیرنده‌های اپیویدی در اثر ضد دردی آن وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: سورنجان کرمانی، آزمون هات‌پلیت، آزمون فرمالین، اثر ضد دردی

* - دانشیار گروه سم‌شناسی و فارماکولوژی دانشکده داروسازی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب و فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان (نویسنده مسئول)

تلفن: ۰۳۴۱-۳۲۲۰۰۰۲، فاکس: ۰۳۴۱-۳۲۲۰۷۹۹، پست الکترونیکی: Heidarimr@yahoo.com

۲- استادیار بخش جراحی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۳- دکتر داروساز، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۴- استادیار بخش داخلی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

مقدمه

درد یکی از پدیده‌هایی است که هر انسانی در طول عمر خود با آن مواجه شده و یک عامل هشدار دهنده محسوب می‌گردد، اما به هر حال یک احساس ناخوشایند است و بشر به دنبال راهی برای مقابله با آن بوده است. آنالیز تحقیقات دهه‌های اخیر نشانگر توجه خاص در مورد داروهای ضد درد می‌باشد [۱۶]. از آنجایی که داروهای ضد درد موجود در بازار دارویی، طیف وسیعی از عوارض نامطلوب را از خود نشان می‌دهند [۲۱]، گیاهان دارویی از ابتدایی‌ترین روش‌ها برای مقابله با بیماری‌ها و تسکین درد بوده‌اند [۱۶]. با توجه به عوارض جانبی کمتری که داروهای گیاهی نسبت به داروهای صنعتی دارند، امروزه توجه محققان جهان به استفاده از گیاهان دارویی معطوف شده است [۲۴، ۱۶، ۲۲]. در ایران نیز تحقیقات متعددی در مورد بررسی عصاره‌های گیاهی بر درد صورت گرفته است [۴، ۵، ۸، ۱۸، ۲۳].

از گیاه سورنجان کرمانی^۱ در طب سنتی به عنوان ضد درد نام برده شده و در بعضی از منابع در مورد اثر ضد دردی آن مطالبی ذکر شده است [۱، ۲، ۶]. در بعضی منابع از گیاه سورنجان به عنوان داروی مؤثر در نفرس حاد نام برده شده است [۶، ۱۰]. از این گیاه در طب سنتی در بیماری‌های نفرس و روماتیسم استفاده می‌شود [۱]؛ هم‌چنین در درمان بیماری‌های دیگر از قبیل آرتريت‌های مزمن و روماتیسم عضلانی و مفصلی [۱۱] و تسکین نفرس [۱۷] نیز استفاده می‌شود.

سورنجان، گیاهی علفی، پایا با پیازی مطبق و زمینی است. این جنس در ایران ۱۵ گونه بنده‌دار دارد. گونه‌های انحصاری آن در ایران متعدّدند [۹]. گونه‌ای که در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفته، Colchicum szovitsii Fisch & C.A. Mey بنام سورنجان کرمانی یا گل حسرت برفی است [۹] که در نواحی جنوبی و جنوب شرق کشور رویش دارد و از تیره گل حسرت^۲ می‌باشد. جهت مصارف دارویی از پیاز گیاه استفاده می‌شود [۲، ۶، ۱۱]. گیاه دارای ماده کلشی سین می‌باشد که احتمالاً ماده مؤثره اصلی گیاه در بروز اثر ضد دردی آن است، هم‌چنین کلشی‌سئین و دمه‌کولسین از

بافت‌های گیاهی استخراج شده‌اند که دارای اثر مشابه کلشی سین هستند [۱۶، ۱۰، ۱۲، ۱۷].

با توجه به مطالب ذکر شده در مورد اثرات ضد دردی و ضد روماتیسمی گیاه سورنجان کرمانی در بعضی از منابع [۱، ۲، ۶] و مصرف سنتی آن به عنوان ضد درد، و از سوی دیگر با توجه به اینکه در بررسی منابع اطلاعاتی مانند Iranmedex و Pubmed مقاله‌ای در مورد بررسی اثر ضد دردی آن یافت نشد، این پژوهش به منظور ارایه یک مدرک علمی در مورد مصرف سنتی این گیاه طراحی شده است. در این تحقیق اثر ضد دردی عصاره متانولی گیاه سورنجان کرمانی با استفاده از آزمون‌های فرمالین که یک آزمون شیمیایی [۱۹، ۲۰، ۲۷، ۲۸] و هت‌پلیت که یک آزمون حرارتی [۳، ۴، ۲۴] برای ارزیابی اثر ضد دردی می‌باشد، در موش سوری مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

حیوان‌ها: برای انجام آزمایش از موش سوری بالغ نر سفید، با وزن تقریبی ۲۵-۲۰ گرم استفاده شد. موش‌ها از مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان تهیه شده و حداقل ۲۴ ساعت قبل از شروع آزمایش به آزمایشگاه منتقل می‌شدند. موش‌ها به راحتی به آب و غذا دسترسی داشته و یک ساعت قبل از آزمایش در قفس‌های مجزا و بدون دسترسی به آب و غذا نگهداری می‌شدند. هر موش فقط یکبار مورد آزمایش قرار گرفته و دمای آزمایشگاه 22 ± 1 درجه سانتی‌گراد بود. آزمایشات در ساعت ۹ تا ۱۵ انجام شده است.

لوازم دستگاهی و مواد مورد استفاده: ترازوی دیجیتال (Sartorius آلمان)، آسیاب برقی (Molinox فرانسه)، دستگاه عصاره‌گیری پرکوله، آون (شرکت ایران خودرو ساز)، دستگاه هت‌پلیت^۳ (شرکت ژرف پویان ایران)، چهار پایه مخصوص آزمون فرمالین، سرنگ انسولین، دستکش و ظروف مختلف آزمایشگاهی مانند بشر، پیپت. در این تحقیق از فرمالین و متانول ساخت کارخانه مرک آلمان، آسپرین، مرفین و نالوکسان تهیه شده از داروپخش ایران، محلول نرمال سالین و عصاره گیاهی استفاده شده است.

1- Colchicum szovitsii

2- Colchicaceae

3- Hot plate

تهیه گیاه سورنجان کرمانی: سورنجان کرمانی بومی منطقه کرمان است، نمونه گیاهی از نواحی اطراف کرمان (جوپار) جمع‌آوری و توسط کارشناسان گیاه شناسی دانشگاه شهید باهنر کرمان شناسایی و نام‌گذاری علمی شد [۹]. پیازهای تازه و خشک شده گیاه از همان منطقه تهیه گردید. سپس پیازها آسیاب شده و برای تهیه عصاره گیاه مورد استفاده قرار گرفت [۶، ۱۱].

روش عصاره گیری: مقدار ۱۰۰ گرم از پودر گیاه سورنجان با متانول ۸۰ درصد به روش پر کوله عصاره‌گیری شد. عصاره به دست آمده به کمک دستگاه تقطیر در خلاء و آون، در دمای ۳۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد تا حد خشک شدن تغلیظ گردید [۳، ۷]. وزن عصاره خشک گیاه ۱۲ گرم بود.

تهیه محلول‌های تزریقی از عصاره و دوزهای مورد استفاده: پس از خشک شدن کامل عصاره، مقداری از آن وزن و در حجم معین نرمال سالین حل تا غلظت دلخواه بدست آید. دوزهای تجربی ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره به حیوانات تجویز شده است. حجم محلول‌های تزریقی به هر موش به میزان ۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم با استفاده از سرنگ انسولین و به صورت داخل صفاقی بوده است [۳، ۴، ۱۳].

برای بررسی اثر ضد ردی هر دوز مشخص عصاره از ۷ موش استفاده گردید. هم‌چنین در گروه‌های جداگانه نرمال سالین به عنوان گروه کنترل (۱۰ ml/kg)، آسپرین (۳۰۰ mg/kg)، مرفین (۲/۵ mg/kg) و نالوکسان (۴ mg/kg) تزریق و نتایج حاصله ثبت گردید [۵، ۱۴].

آزمون Hot plate: دستگاه‌های پللیت دارای صفحه فلزی داغی است که شدت گرمای آن قابل کنترل می‌باشد. در این آزمون گرمای صفحه ۵۵±۰/۵ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شده است. حیوان بر اثر گرما اقدام به بلند کردن یا لیسیدن پای جلو و عقب خود می‌نماید، تأخیر زمانی بروز این واکنش، به عنوان شاخص درد قلمداد شد [۳، ۴، ۲۴]. هر موش قبل از تزریق عصاره روی دستگاه قرار گرفته و پاسخ حیوان نسبت به محرک درناک (گرما) ثبت شد. این زمان عکس‌العمل حیوان به عنوان Base line در نظر گرفته شده و برای محاسبات بعدی مورد استفاده قرار گرفت. فاصله زمانی از قرار دادن موش روی صفحه، تا لحظه عکس‌العمل (که شامل لیسیدن یا

پريدن می‌باشد) پس از تزریق عصاره بر حسب ثانیه، به عنوان پاسخ تأخیری یا Test Latency نامیده می‌شود. در این آزمون برای هر موش پس از تزریق عصاره، عکس‌العمل حیوان به مدت ۶۰ دقیقه پس از تزریق به فواصل ۱۵ دقیقه‌ای ثبت و برای محاسبه حداکثر اثر ممکن Maximum possible (effect) طبق رابطه زیر استفاده شد [۳، ۴، ۲۴].

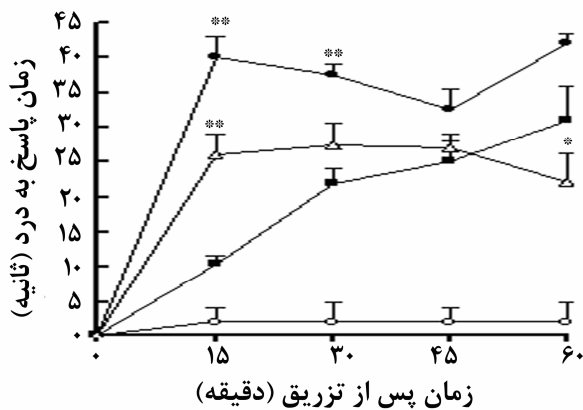
$$\text{MPE\%} = \frac{\text{Test latency (Sec)} - \text{Base line (Sec)}}{\text{Cut off point (Sec)} - \text{Base line (Sec)}} \times 100$$

Test Latency: پاسخ تأخیری پس از تزریق عصاره.
Base line: پاسخ حیوان (Latency) در مقابل محرک قبل از تزریق عصاره.

Cut off: حداکثر زمان مجاز قرار گرفتن موش روی صفحه داغ از لحاظ اخلاقی جهت جلوگیری از آسیب بافتی (۳۰ Sec).
آزمون فرمالین: این آزمون نمونه خوبی از رفتار منظم و هماهنگ حیوان را در پاسخ به محرک شیمیایی و دردناک نشان می‌دهد و یکی از آزمون‌های استاندارد در مورد اندازه‌گیری پاسخ در برابر درد می‌باشد [۱۵، ۲۰، ۲۷، ۲۸]. در این آزمون، از فرمالین ۰/۵ درصد به عنوان محرک ایجاد کننده درد استفاده شد، که به میزان ۲۵ میکرولیتر به صورت زیر جلدی به کف پای راست موش تزریق گردید. ۱۵ دقیقه قبل از تزریق فرمالین عصاره با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تزریق شد. پاسخ در برابر محرک دردزا در محدوده زمانی ۳۰ دقیقه پس از تزریق ثبت گردید. پاسخ در برابر درد مجموعه زمان‌هایی است که صرف لیسیدن و گاز گرفتن پای تزریق شده بر حسب ثانیه می‌گردد [۳، ۴، ۱۹]. زمان‌ها هر ۵ دقیقه اندازه‌گیری شده و میزان عددی آن معرف مقدار درد ایجاد شده، در نتیجه تزریق فرمالین به کف پای موش است [۱۹].

روش آماری: در هر سری از آزمایش‌ها اثر یک دوز عصاره گیاهی بر بی‌دردی، به صورت میانگین و انحراف معیار Mean±SEM در هر گروه ثبت شد. محاسبه آماری جهت تعیین وجود اختلاف معنی‌دار (Significant)، میان گروه‌های آزمایشی به روش t-test یا آنالیز واریانس (ANOVA) و به دنبال آن روش Newman-Keuls انجام گرفت. اختلاف با $p < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شده است [۳، ۱۹].

حالی که اثر ضد دردی عصاره به طور معنی‌دار ($p < 0.05$) بیشتر از آسپرین می‌باشد.



نمودار ۲: مقایسه اثر ضد دردی عصاره سورنجان با آسپرین و مرفین بر حسب زمان در موش سوری با روش هات پلیت.

به هر گروه از موش‌ها نرمال سالین به میزان ۱۰ ml/kg (O) و یا دوزهای ۱۰۰ mg/kg از عصاره (■) و یا مرفین ۲۰ mg/kg (●) یا آسپرین با دوز ۳۰۰ mg/kg (Δ) تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین $\pm$ معیار حداکثر اثر ضد دردی در ۷ موش می‌باشد.

*: $p < 0.05$ اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه عصاره

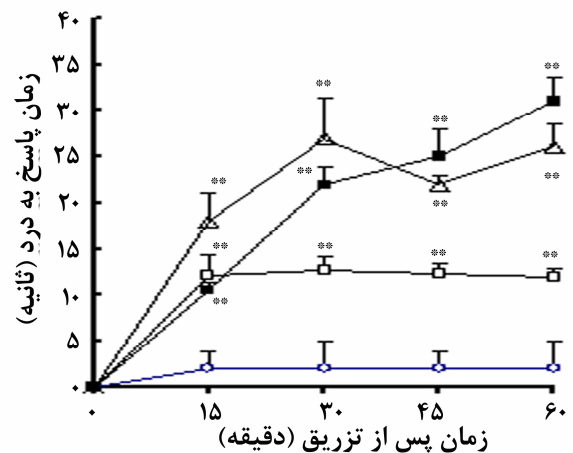
*: $p < 0.01$ اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه عصاره

بررسی اثر مؤثرترین دوز عصاره در حضور نالوکسان در آزمون هات پلیت: نالوکسان با دوز ۴ mg/kg به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های اوپیویدی به صورت SC به پشت کردن موش تزریق گردید. بعد از گذشت ۵ دقیقه از تزریق نالوکسان، مؤثرترین دوز عصاره ۱۰۰ mg/kg به صورت داخل صفاتی تزریق شد. طبق نمودار ۳، نالوکسان در تمامی زمان‌ها به جز ۱۵ دقیقه باعث کاهش اثر ضد دردی عصاره شده است ($p < 0.01$).

برسی اثر ضد دردی دوزهای مختلف عصاره متانولی حاصل از روش پرکوله در آزمون فرمالین: عصاره سورنجان کرمانی با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، به صورت داخل صفاقی تزریق و ۱۵ دقیقه بعد فرمالین به صورت SC به کف پای موش‌ها تزریق شد. همان‌طور که در نمودار ۴ مشاهده می‌گردد، هر دو دوز عصاره از زمان ۱۵-۱۰ دقیقه به بعد دارای اثر ضد دردی معنی‌داری ($p < 0.05$) نسبت به گروه کنترل می‌باشند. از دوز ۲۰۰ mg/kg به دلیل بروز عوارض سمی صرف نظر گردید.

نتایج

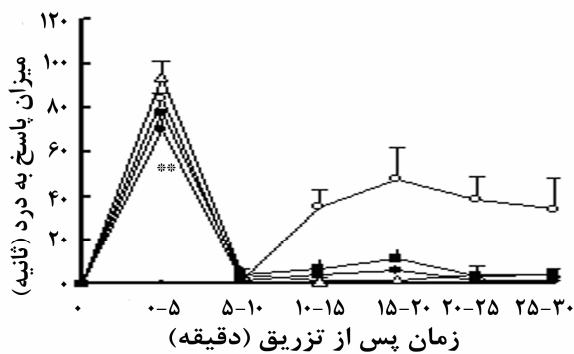
بررسی اثرات ضد دردی دوزهای مختلف عصاره متانولی حاصل از روش پرکوله در تست هات پلیت: عصاره پرکوله سورنجان کرمانی با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم، به صورت داخل صفاقی (IP)، تزریق و اثر ضد دردی آن توسط دستگاه هات پلیت اندازه‌گیری و با گروه کنترل (نرمال سالین ۱۰ ml/kg) مقایسه گردید. همان‌طور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود، دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره دارای حداکثر اثر ضد دردی بوده و تمامی دوزهای عصاره در همه زمان‌ها نسبت به گروه کنترل دارای اختلاف معنی‌دار ($p < 0.01$) بوده‌اند.



نمودار ۱: رابطه اثر ضد دردی دوزهای مختلف عصاره سورنجان بر حسب زمان در موش سوری با روش هات پلیت.

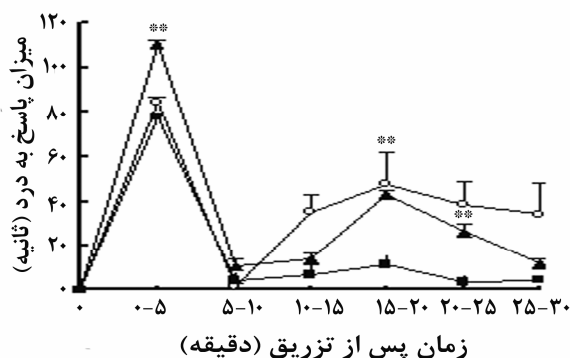
به هر گروه از موش‌ها نرمال سالین به میزان ۱۰ ml/kg (O) و یا دوزهای ۵۰ mg/kg (□)، ۱۰۰ mg/kg (■) و یا ۲۰۰ mg/kg (Δ) از عصاره پرکوله به صورت داخل صفاقی تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین $\pm$ خطای معیار حداکثر اثر ضد دردی در ۷ موش می‌باشد. *: $p < 0.05$ اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه عصاره

مقایسه اثر ضد دردی مؤثرترین دوز عصاره متانولی حاصل از روش پرکوله با مرفین و آسپرین در آزمون هات پلیت: اثرات ضد دردی مؤثرترین دوز عصاره ۱۰۰ mg/kg با دوز ۳۰۰ mg/kg از آسپرین و دوز ۲/۵ mg/kg مرفین مقایسه گردید. همان‌طور که در نمودار ۲ مشاهده می‌شود، اثر ضد دردی عصاره در زمان‌های ۱۵ و ۳۰ دقیقه به طور معنی‌دار ($p < 0.01$) کمتر از مرفین و در زمان ۱۵ دقیقه کمتر از آسپرین ($p < 0.01$) است. حداکثر اثر ضد دردی عصاره، مرفین و آسپرین در دقیقه ۶۰ ایجاد شده و تفاوت معنی‌داری بین اثر ضد دردی عصاره و مرفین مشاهده نشد در

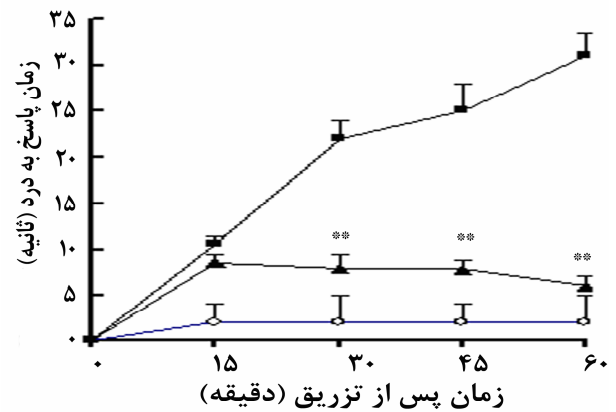


نمودار ۵: مقایسه اثر ضدردی عصاره سورنجان کرمانی، با مرفین و آسپرین بر حسب زمان در موش سوری با آزمون فرمالین. به هر گروه از موش‌ها نرمال سالین به میزان ۱۰ ml/kg (○) و یا دوز ۱۰۰ mg/kg از عصاره (●) یا مرفین ۲ mg/kg (●) یا آسپرین ۳۰۰ mg/kg (Δ) به صورت داخل صفاقی ۱۵ دقیقه قبل از فرمالین، تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین $\pm$ خطای معیار مدت زمان پاسخ‌گویی به اثر دردزایی فرمالین در ۷ موش می‌باشد. $p < 0.01$ ؛ ** اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه عصاره

بررسی اثر ردی مؤثرترین دوز عصاره در حضور نالوکسان در آزمون فرمالین: به یک گروه از موش‌ها ابتدا نالوکسان با دوز ۴ mg/kg به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های اوبیویدی به صورت زیر جلدی به پشت گردن موش تزریق شد. بعد از گذشت ۵ دقیقه دوز ۱۰۰ mg/kg عصاره به صورت IP تزریق و آزمون فرمالین انجام شد. طبق نمودار ۶ نالوکسان در زمان‌های ۰-۵، ۱۵-۲۰، ۲۰-۲۵ دقیقه به طور معنی‌دار ($p < 0.01$)، اثر ضدردی عصاره را کاهش داده است.

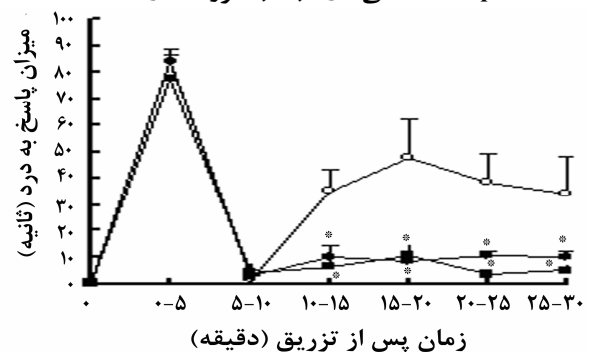


نمودار ۶: رابطه اثرات ضدردی عصاره سورنجان کرمانی در حضور نالوکسان، بر حسب زمان در موش سوری با آزمون فرمالین. به هر گروه از موش‌ها نرمال سالین به میزان ۱۰ ml/kg (○) و یا دوز ۱۰۰ mg/kg از عصاره (■) و دوز ۱۰۰ mg/kg از عصاره به همراه ۴ mg/kg از نالوکسان (▲) تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین $\pm$ خطای معیار مدت زمان پاسخ‌گویی به اثر دردزایی فرمالین در ۷ موش می‌باشد. $p < 0.01$ ؛ ** اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه عصاره



نمودار ۳: رابطه اثرات ضدردی عصاره سورنجان کرمانی در حضور نالوکسان، بر حسب زمان در موش سوری با روش هات پلایت. به هر گروه از موش‌ها نرمال سالین به میزان ۱۰ ml/kg (○) و یا دوز ۱۰۰ mg/kg از عصاره (■) و یا دوز ۱۰۰ mg/kg از عصاره به همراه ۴ mg/kg از نالوکسان (▲) تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین $\pm$ خطای معیار حداکثر اثر ضد ردی در ۷ موش می‌باشد.

$p < 0.01$ ؛ ** اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه عصاره



نمودار ۴: رابطه اثرات ضدردی دوزهای مختلف عصاره سورنجان کرمانی، بر حسب زمان در موش سوری با آزمون فرمالین. به هر گروه از موش‌ها نرمال سالین به میزان ۱۰ ml/kg (○) و یا دوزهای ۵۰ mg/kg (●) از عصاره و ۱۰۰ mg/kg (■) به صورت داخل صفاقی ۱۵ دقیقه قبل از فرمالین، تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین $\pm$ خطای معیار مدت زمان پاسخ‌گویی به اثر دردزایی فرمالین در ۷ موش می‌باشد.

$p < 0.05$ ؛ * اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل

مقایسه اثر ضد ردی مؤثرترین دوز عصاره پركوله با آسپرین و مرفین در آزمون فرمالین: به دو گروه از موش‌ها به ترتیب دوزهای ۲/۵ mg/kg از مرفین ۳۰۰ mg/kg از آسپرین تزریق و اثرات ضد ردی آن‌ها با گروه کنترل و دوز ۱۰۰ mg/kg از عصاره مقایسه گردید. همان‌طور که در نمودار ۵ مشاهده می‌شود، اثر ضد ردی آسپرین و مرفین در هیچ یک از زمان‌ها با دوز مؤثر عصاره ۱۰۰ mg/kg، در فاز دوم آزمون فرمالین دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

بحث

در این تحقیق اثر ضد دردی عصاره متانولی پرکوله گیاه سورنجان کرمانی با آزمون فرمالین و هات‌پلیت در موش سوری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بررسی نشان می‌دهد که دوزهای ۱۰۰، ۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره متانولی این گیاه در آزمون هات‌پلیت اثر ضد دردی معنی‌داری نسبت به گروه کنترل ایجاد نموده است ($p < 0/01$). دوز ۱۰۰ mg/kg به عنوان مؤثرترین دوز در نظر گرفته شد که در زمان ۶۰ دقیقه به حداکثر اثر ضد دردی خود رسیده که احتمال دارد به علت رسیدن به غلظت خونی مناسب عصاره در این زمان باشد [۲۶]. با توجه به اینکه در آزمون‌های حرارتی مثل هات‌پلیت مکانیسم‌های مرکزی کنترل درد دخالت دارند [۳، ۴، ۲۴]، لذا به نظر می‌رسد که حداقل قسمتی از اثرات ضد دردی عصاره گیاه سورنجان کرمانی، از طریق مکانیسم‌های مرکزی واسطه‌گری شود. به دنبال آزمون هات‌پلیت دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره در آزمون فرمالین مورد بررسی قرار گرفت. دوز ۲۰۰ mg/kg با وجود اثر ضد دردی مناسب در آزمون هات‌پلیت، به دلیل بروز عوارض سمی نظیر اسهال و خواب‌آلودگی در موش‌ها، در آزمون فرمالین مورد ارزیابی قرار نگرفت. عصاره سورنجان در آزمون فرمالین باعث کاهش درد در فاز دوم یا مزمن درد شده است. درد ایجاد شده در آزمون فرمالین از نوع تونیک است؛ یعنی عامل ایجاد کننده درد و خود درد، گذرا و کوتاه نیست و حدود ۹۰-۳۰ دقیقه طول می‌کشد. تزریق زیر جلدی فرمالین باعث ایجاد یک نوع درد دو فازی می‌گردد. فاز اول درد را فاز حاد می‌گوییم که در ۵ دقیقه اول بعد از تزریق ایجاد شده و در دقیقه‌های ۱۵-۱۰ پس از تزریق کاهش می‌یابد. به دنبال آن فاز دوم درد آغاز می‌شود که فاز تونیک نام دارد و یک درد پایدار متوسط در ۶۰-۲۰ دقیقه پس از تزریق را شامل می‌گردد. فاز اول درد به دلیل تحرک مستقیم گیرنده‌ها و فاز دوم به دلیل تثبیت پاسخ التهابی حاصل می‌شود [۱۹، ۲۵، ۲۷، ۲۸].

دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره متانولی سورنجان کرمانی در زمان‌های ۱۵-۱۰ دقیقه به بعد اثر ضد دردی قابل توجهی نسبت به گروه کنترل ایجاد نموده است ($p < 0/05$)، بنابراین به نظر می‌رسد عصاره این گیاه دارای

اثرات ضدالتهابی بوده و درد را در فاز دوم به طور مؤثرتری کاهش داده است [۲۷، ۲۸]. در مورد بررسی اثر ضد دردی گیاه حنا [۸] و بادرنبویه [۵] نتایج تحقیقات، نشانگر اثر ضد دردی عصاره متانولی گیاهان مذکور در فاز دوم درد بوده که با نتایج این تحقیق مشابهت دارد. مقایسه اثر ضد دردی دوز ۱۰۰ mg/kg عصاره با مرفین ۲/۵ mg/kg در فاز دوم آزمون فرمالین، نشان می‌دهد که در هیچ یک از زمان‌ها اثر ضد دردی عصاره با مرفین دارای اختلاف معنی‌دار نیست. در آزمون هات‌پلیت، صرفاً در زمان‌های ۱۵ و ۳۰ دقیقه اثر ضد دردی عصاره به طور معنی‌دار ($p < 0/01$) کمتر از مرفین بود و در سایر زمان‌ها این اختلاف معنی‌دار نبود که نشان دهنده وجود اثر ضد دردی قابل توجه در گیاه سورنجان کرمانی است. مقایسه اثر ضد دردی مؤثرترین دوز عصاره (۱۰۰ mg/kg) با آسپرین ۳۰۰ mg/kg در فاز دوم آزمون فرمالین نشان می‌دهد که در هیچ یک از زمان‌ها اختلاف معنی‌دار وجود ندارد و اثر ضد دردی عصاره در حد آسپرین می‌باشد. با توجه به اینکه داروهای NSAID باعث کاهش مشخص درد در فاز دوم می‌شوند [۲۵، ۲۸] و با توجه به اینکه، فاز دوم درد در آزمون فرمالین فاز التهابی است [۴، ۲۷، ۲۸]، لذا احتمال دخالت عصاره گیاهی در روندهای التهابی تقویت می‌شود [۲۸]. در آزمون هات‌پلیت اثر ضد دردی عصاره در دقیقه ۱۵ با اختلاف معنی‌دار ($p < 0/01$) کمتر از آسپرین و در دقیقه ۶۰ که حداکثر اثر ضد دردی عصاره است، با اختلاف معنی‌دار ($p < 0/05$) اثر ضد دردی عصاره بیشتر از آسپرین می‌باشد. در آزمون هات‌پلیت درمان قبلی موش‌ها با نالوکسان ۴ mg/kg، باعث کاهش اثر ضد دردی عصاره شده است. با توجه به اینکه در آزمون هات‌پلیت، مکانیسم‌های مرکزی کنترل درد مطرح هستند [۲۴]، احتمال دخالت گیرنده‌های اوپیویدی در اثرات ضد دردی عصاره این گیاه، وجود دارد [۱۳، ۱۴، ۲۴]. در آزمون فرمالین نیز درمان قبلی موش‌ها با نالوکسان باعث کاهش اثر ضد دردی عصاره گردیده، بنابراین احتمال دخالت گیرنده‌های اوپیویدی در اعمال اثر ضد دردی عصاره، گیاه سورنجان کرمانی تقویت می‌گردد. مواد مؤثره گیاهان این گونه، کلشی سین، کلشی سئین و دمه کولسین ذکر گردیده [۱۰، ۱۱، ۱۲] که به نظر می‌رسد ماده مؤثره مهم و اصلی گیاه، کلشی سین

باشد که در ایجاد اثر ضددردی و ضد التهابی دخالت داشته باشد. در خاتمه می‌توان گفت، عصاره متانولی گیاه سورنجان کرمانی دارای اثر ضد دردی قابل توجه می‌باشد که با خالص‌سازی اجزای مؤثر گیاه، می‌توان به نتایج بهتری دست یافت. اگر چه اظهار نظرهای قطعی‌تر نیاز به انجام مطالعات بیشتر در این می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از راهنمایی علمی خانم دکتر میترا مهربانی و همکاری آقای جلال وفازاده صمیمانه تشکر می‌شود.

منابع

- [۱] آیینہ چی ی: مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران. انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۷۰، صفحات: ۷-۱۰۴۶.
- [۲] امین غ: گیاهان دارویی سنتی ایران. جلد ۱، انتشارات معاونت پژوهشی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ۱۳۷۰، صفحه: ۳۴.
- [۳] حیدری م، اسدی پور ع، حامی م: بررسی اثر ضد دردی عصاره گیاه ترخون و مطالعه هیستوپاتولوژی و اولسروژنیک آن. مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی، جلد ۶، شماره ۱، بهار و تابستان ۸۱، صفحات: ۱۱۸-۱۰۷.
- [۴] حیدری م، اسدی پور ع، غیور م: بررسی اثر ضد دردی و زخم زایی عصاره متانولی گل بابونه. مجله دانشگاه علوم پزشکی قزوین، شماره ۲۰، زمستان ۸۰، صفحات: ۲۳-۱۵.
- [۵] حیدری م، زاهدی م، عسکری ع: مقایسه اثر ضد دردی عصاره متانولی گیاه باد رنجبویه با مرفین و استیل سالیسیلیک اسید با استفاده از آزمون فرمالین در موش سوری. مجله علمی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اهواز، شماره ۲۹، اسفند ۱۳۷۹، صفحات: ۳۵-۴۲.
- [۶] زرگری ع: گیاهان دارویی. جلد چهارم، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۶۹، صفحات: ۷-۵۹۰.
- [۷] صمصام شریعت ه: عصاره گیری و استخراج مواد مؤثره گیاهان دارویی و روش‌های شناسایی و ارزشیابی آن‌ها. انتشارات مانی، اصفهان، ۱۳۷۱، صفحات: ۲۱-۱۰.
- [۸] محبی ص: بررسی اثر ضد دردی عصاره متانولی حنا (*Lawsonia inermis*) با آزمون فرمالین و هت‌پلیت و اثرات اولسروژنیک و هیستوپاتولوژی آن. پایانامه دکتری عمومی داروسازی، شماره ۲۶۳، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۱۳۷۸، صفحه: ۳۸.
- [۹] مظفریان و: فرهنگ نام‌های گیاهان ایرانی. چاپ نوبهار، چاپ دوم، ۱۳۷۷: صفحات: ۸-۱۳۷.
- [۱۰] معطر ف، شمس اردکانی مر، زیر نظر علی اکبر ولایتی: راهنمای گیاه درمانی، فرهنگستان علوم پزشکی جمهوری اسلامی ایران، چاپ اول، ۱۳۷۸، صفحات: ۱-۱۴۰.
- [۱۱] ولاگ ژ: گیاهان دارویی، روش‌های کشت، برداشت و شرح مصور رنگی ۲۵۶ گیاه. ترجمه: زمان، س. انتشارات ققنوس، ۱۳۷۴، صفحه: ۱۵۵.

[12] Alali F, Tawaha K, Qasaymeh RM: Determination of colchicine in *Colchicum steveni* and *C. hierosolymitanum* (Colchicaceae): comparison between two analytical methods. *Phytochem Anal.*, 2004;15(1):27-9.

[13] Cicero TJ, Aylward SC, Mayer ER: Gender differences in the intravenous self-administrat_

ion of mu opiate agonists. *Pharmacol Biochem Behav.*, 2003; 74(3): 541-9.

[14] Cicero TJ, Nock B, Mayer ER: Gender-related differences in the antinociceptive properties of morphine. *J Pharmacol Exp Ther.*, 1996; 279(2): 767-73.

[15] Dubisson D, Dennis SG: Th formalin test; A quantitative study of the analgesic effects of

- prostaglandin antagonists in the rat. *J Pharmacol.*, 1987; 133(33): 249-59.
- [16] Elisabetsky E, Castilhos ZC:. Plants used as analgesics by Amazonian caboclos as a basis for selecting plants for investigation. *Int J Crude Drug Res.*, 1990; 28(4): 309-320.
- [17] Evans WC, Evanc D: Treas and Evans Pharmacognosy, 15th ed, WB saunders, London, 2002; pp: 369-70.
- [18] Hajhashemi V, Ghanadi A, Pezeshkian SK: Antinociceptive and anti- inflammatory effects of *Satreja hortensis* L. extracts and essential oil. *J Ethnopharmacol.*, 2002; 82(2-3): 83-7.
- [19] Heidari MR, Khalili F, Ghazi-khansari M, Hashemi B, Zarrindast MR: Effect of picrotoxin on antinociception in the formalin test. *J Pharmacol Toxicol.*, 1996; 78(5): 313-16.
- [20] Hunskaar S, Hole K: The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain*, 1987; 30(1): 103-14.
- [21] Katzung BG: Basic and clinical pharmacology, 8th ed; Appleton and Lange, USA, 2004; pp: 507-9, 581.
- [22] Khanna N, Bhatia J: Antinociceptive action of *Ocimum sanctum* (Tulsi) in mice: possible mechanisms involved. *J Ethnopharmacol.*, 2003; 88(2-3), 293-6.
- [23] Mandegary A, Sayyah M, Heidari MR: Antinociceptive and anti- inflammatory activity of the seed and root extracts of *Ferula gummosa* boiss. in mice and rats. *Journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences. DARU*, 2004; 12(2): 58-62.
- [24] Paulino N, Dantas AP, Bankova V, Longhi DT, Scremin A, de Castro SL, Calixto JB: Bulgarian propolis induces analgesic and anti-inflammatory effects in mice and inhibits in vitro contraction of airway smooth muscle. *J Pharmacol Sci.*, 2003; 93(3): 307-13.
- [25] Sawynok J, Reid A, Poon A: Peripheral antinociceptive effect of an adenosine kinase inhibitor, with augmentation by an adenosine deaminase inhibitor, in the rat formalin test. *Pain*, 1998; 74(1): 75-81.
- [26] Shargel L, Yu A: Applied biopharmaceutics and pharmacokinetic, 4th ed, Appleton and Lange, USA, 1999; pp: 32-35, 325, 355.
- [27] Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, Inoki R: Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. *Pain.*, 1989; 38(3): 347-52.
- [28] Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K: The formalin test: an evaluation of the method. *Pain*, 1992; 51(1): 5-17.

The Analgesic Effect and Possible Mechanism of Colchicum Szovitsii Methanolic Extract in Mouse

MR. Heidari PhD^{1*}, M. Vahedian MD², S.Moamenzadeh Pharm.D³, MM. Hayatbakhsh Abbasi MD⁴

1- Associated Professor of Pharmacology, Dept. of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Neuroscience and Physiology Research Center, University of Medical Sciences, Kerman, Iran

2- Assistant Professor of General Surgery, University of Medical Sciences, Kerman, Iran

3- Pharmacist, Faculty of Pharmacy, University of Medical Sciences, Kerman, Iran

4- Assistant Professor of Internal Medicine, University of Medical Sciences, Kerman, Iran

Background: Some of plants are used as analgesic in traditional medicine. The aim of this investigation was to evaluate the analgesic effects of *colchicum szovitsii* Fisch and C.A. Mey that has been used traditionally to relieve the pain.

Materials and Methods: The plant specimen was collected from Jupar, and then identified and nominated by a botanist. The dried bulbs of the plant was powdered and extracted by Percolated method and then concentrated by rotatory evaporator and oven. Different doses of methanolic extract of the plant was injected into male albino mice (20-25g) and its analgesic effect was evaluated by Hot-plate and formalin test.

Results: The results showed that all doses of extract, induce significant analgesia ($p < 0.01$) in Hot plate test. The dose of 200 mg/kg of extract, induced toxic effect such as diarrhea and lethargy in mice. The results showed that, the doses of 50 and 100 mg/kg of extract, induced significant antinociception compared to the control group in all time intervals after 10-15 minutes in formalin test ($p < 0.05$, $p < 0.01$). There was not significant differences between the analgesic effect of the most effective dose of extract (100 mg/kg), ASA(300 mg/kg) and morphine (2.5 mg/kg), in second phase of formalin test. The analgesic effect of the extract was lower than morphine ($p < 0.01$) 15 am 30 min after injection in Hot plate test. The analgesic effect of extract was lower than ASA 15 min after injection ($p < 0.01$) but was higher than ASA 60 min after injection ($p < 0.05$). Pretreatment of animals with naloxone 4mg/kg, subcutaneously, five minute before extract injection, decreased the analgesia induced by extract in all times of hot-plate test ($p < 0.01$) except 15 min. Naloxone decreased the analgesic effect of extract in formalin test ($p < 0.01$), except in time intervals between 5-10, 10-15 and 25-30 min.

Conclusion: The results show that, the methanolic extract of *colchicum szovitsii* has a significant analgesic effect in formalin and Hot plate test and the opioid receptor may be involved in the analgesic effect of this plant. The results of this investigation could be used for more studies to access a better results.

Key words: Colchicum szovitsii, Hot-plate test, Formalin test, analgesia

* Corresponding author: Tel: (0341)3220001-3, Fax: (341)3220799, E-mail: heidarimr@yahoo.com

Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences and Health Services, 2005, 4(1):25-33

