م**قاله پژوهشی** مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان جلد چهارم، شماره اول، زمستان ۱۳۸۳

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

محمودرضا حيدري "، مهرداد واحديان ، سارا مؤمنزاده ، محمدمهدي حيات بخش عباسي على المراد المراد

یدیوش: 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) جمع آوری و توسط گیاه شناسایی و نام گذاری شد. پیاز خشک شده گیاه، پودر و به روش پر کوله عصاره گیری و توسط دستگاه تقطیر در خلاء و آون تا حد خشک شدن تغلیظ گردید. عصاره متانولی پر کوله 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 هات پلیت (Hot plate) و فرمالین بررسی گردید.

یافتهها: در آزمون هاتپلیت اثر ضد دردی دوزهای مختلف عصاره با گروه کنترل تفاوت معنی دار داشت (۲۰۰) در بررسی دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره، عوارض سمی مانند اسهال و خواب آلودگی در موشها مشاهده شد. در آزمون فرمالین دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره در زمانهای 10^{-1} دقیقه به بعد، اثر ضد دردی قابل ملاحظه ای نسبت به گروه کنترل ایجاد نمودند (به ترتیب p<0.0 و p<0.0). در آزمون فرمالین تفاوت معنی داری بین اثر ضد دردی دوز p<0.0 ایجاد نمودند (به ترتیب p<0.0 و p<0.0). در آزمون هاتپلیت در زمانهای p<0.0 دقیقه پس از تزریق، p<0.0 عصاره مرفین و آسپرین در فاز مزمن مشاهده نشد. در آزمون هاتپلیت در زمانهای p<0.0 دقیقه پس از تزریق، اثر ضد دردی عصاره کمتر از مرفین p<0.0 بود، اما در زمان های در دادی عصاره در قیقه در آزمون هاتپلیت شد و حیوانها با نالوکسان باعث کاهش اثر ضد دردی عصاره در همه زمانها اثر ضد دردی عصاره در بقیه زمانها کاهش معنی داری پیدا در آزمون فرمالین به جزء زمانهای ۱۵ - ۱۵ - ۱۵ - ۱۵ - ۱۵ دقیقه اثر ضد دردی عصاره در بقیه زمانها کاهش معنی داری پیدا کرد (p<0.0).

نتیجه گیری: در این پژوهش اثر ضد دردی مناسبی از عصاره سورنجان کرمانی در آزمونهای هات پلیت و فرمالین مشاهده گردید و احتمال دخالت گیرندههای اپیوییدی در اثر ضد دردی آن وجود دارد.

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

۱°- دانشیار گروه سم شناسی و فارماکولوژی دانشکده داروسازی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب و فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان (نویسندهٔ مسئول)

Heidarimr@yahoo.com ناکس: ۳۲۲۰۰۹۹ فاکس: ۳۲۲۰۷۹۹ پست الکترونیکی: Нейагітг

۲- استادیار بخش جراحی، دانشگاه علوم یزشکی 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 می گردد، 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 ضددر موجود در بازار میباشد [۱۶]. از آنجایی که داروهای ضددر موجود در بازار دارویی، طیف وسیعی از عوارض نامطلوب را از خود نشان میدهند [۲۱]، گیاهان دارویی از ابتدایی ترین روشها برای مقابله با بیماریها و تسکین درد بودهاند [۱۶]. با توجه به عوارض جانبی کمتری که داروهای گیاهی نسبت به داروهای عوارض جانبی کمتری که داروهای گیاهی نسبت به داروهای صناعی دارند، امروزه توجه محققان جهان به استفاده از گیاهان دارویی معطوف شده است ایب ایبرای نیز تحقیقات متعددی در مورد بررسی عصارههای گیاهی بر درد تحقیقات متعددی در مورد بررسی عصارههای گیاهی بر درد

از گیاه سورنجانی کرمانی در طب سنتی به عنوان ضد درد نام برده شده و در بعضی از منابع در مورد اثر ضددردی آن مطالبی ذکر شده است [۱٬۲۰۶]. در بعضی منابع از گیاه سورنجان به عنوان داروی مؤثر در نقرس حاد نام برده شده است [۶٬۱۰]. از این گیاه در طب سنتی در بیماریهای نقرس و روماتیسم استفاده میشود [۱]؛ همچنین در درمان بیماریهای دیگر از قبیل آرتریتهای مزمن و روماتیسم عضلانی و مفصلی [۱۱] و تسکین نقرس [۱۷] نیز استفاده میشود.

سورنجان، گیاهی علفی، پایا با پیازی مطبق و زمینی است. این جنس در ایران ۱۵ گونه بنه دار دارد. گونه های انحصاری آن در ایران متعددند [۹]. گونه ای که در ایس تحقیق مورد بررسی قرار گرفته، . Colchicum szovitsii Fisch & C.A. بررسی قرار گرفته، . 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 می میاشد. جهت مصارف دارویی از پیاز گیاه استفاده می شود [۱،۶٬۱۱]. گیاه دارای ماده کلشی سین می باشد که احتمالاً ماده مؤثره اصلی گیاه در بروز اثر ضد دردی آن است، همچنین کلشی سئین و دمه کولسین از دردی آن است، همچنین کلشی سئین و دمه کولسین از

بافتهای گیاهی استخراج شدهاند که دارای اثر مشابه کلشی سین هستند [۱٬۶٬۱۲٬۱۷].

با توجه به مطالب ذکر شده در مورد اثرات ضددردی 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 و Dubmed و مقاله ی در مورد بررسی اثر ضد دردی آن یافت نشد، این مقاله ی در مورد مصرف 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] ارای ارزیابی اثر فد دردی میباشد، در موش سوری مورد ارزیابی قرار گرفته 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 یک ساعت قبل از آزمایش در قفسهای مجزا و بدون مسترسی به آب و غذا نگهداری میشدند. هر موش فقط یکبار مورد آزمایش قرار گرفته و دمای آزمایشگاه ۱±۲۲ درجه سانتی گراد بود. آزمایشات در ساعت ۹ تا ۱۵ انجام شده است.

لوازم دستگاهی و مواد مصورد استفاد: ترازوی دیجیتال Sartorius) آسیاب برقی (Molinex فرانسه)، دستگاه عصاره گیری پرکوله، آون (شرکت ایران خودروساز)، دستگاه هاتپلیت (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 مصرک آلمان، آسپرین، مصرفین 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) جمع آوری 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 آسیاب شده و برای تهیه عصاره گیاه مورد استفاده قرار گرفت

روش عصاره گیری: مقدار ۱۰۰ گرم از پودر گیاه سورنجان با متانول ۸۰ درصد به روش پر کوله عصاره گیری شد. عصاره به دست آمده به کمک دستگاه تقطیر در خلاء و آون، در دمای ۳۵–۳۰ درجه سانتی گراد 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[۳٬۴۰۱۳].

برای بررسی اثر ضد دردی هر دوز مشخص عصاره از ۷ موش استفاده گردید. همچنین در گروههای جداگانه نرمال سالین به عنوان گروه کنترل (۱۰ml/kg)، آسپرین (۳۰mg/kg)، مرفین (۲/۵ mg/kg) و نالوکسان (۳۸/kg)؛ تزریق و نتایج حاصله ثبت گردید [۵،۱۴].

آزمون گرمای است که شدت گرمای آن قابل کنترل میباشد. در این داغی است که شدت گرمای آن قابل کنترل میباشد. در این آزمون گرمای صفحه ۵۵±۰/۵ درجه سانتی گراد 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 اقعدا شده و برای محاسبات به عنوان استفاده قرار گرفته شده و برای محاسبات بعدی مورد استفاده قرار گرفت. فاصله زمانی از قرار دادن بوش روی صفحه، تا لحظه عکسالعمل (که شامل لیسیدن یا

پریدن 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 برای محاسبه داکثر اثر ممکن (effect)

Test latency (Sec) – Base line(Sec) MPE%= Cut off point (Sec)- Base line (Sec)

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

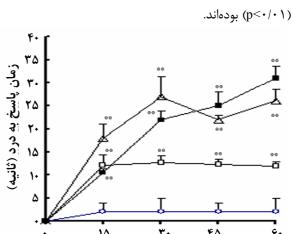
Cut off: حداکثر زمان مجاز قرار گرفتن موش روی صفحه داغ از لحاظ اخلاقی جهت جلوگیری از آسیب بافتی (۳۰Sec). آزمون فرمالین: این آزمون نمونه خوبی از رفتار منظم و هماهنگ حیوان را در پاسخ به محرک شیمیایی و دردناک نـشان مـیدهـد و یکـی از آزمـونهـای اسـتاندارد در مـورد اندازه گیری پاسخ در برابر درد می باشد [۱۵،۲۰،۲۷،۲۸]. در این آزمون، از فرمالین ۵/۵ 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 میلی گـرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاتی 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 می گردد [۳،۴،۱۹]. زمانها هـر ۵ دقیقـه انـدازهگیـری شـده و میـزان 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 بی دردی، به صورت میانگین و انحراف معیار گیاهی بر بی دردی، به صورت میانگین و انحراف معیار Mean±SEM در هر گروه ثبت شد. محاسبه آماری جهت تعیین وجود اختلاف معنی دار (Significant)، میان گروههای آزمایشی به روش t-test یا آنالیز واریانس (ANOVA) و به دنبال آن روش Newman-Keuls انجام گرفت. اختلاف با دنبال آن روش گرفته شده است [۲٬۱۹].

نتايج

حالی که اثر ضد دردی عصاره به طور معنی دار (p<-/-۵)

بررسى اثرات ضد دردى دوزهاى مختلف عصاره متانولى حاصل از روش پرکوله در تست هات پلیت: عصاره پرکوله سورنجان کرمانی با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گـرم، بـه صورت داخل صفاقی (IP)، تزریق و اثر ضددردی آن توسط دستگاه هاتپلیت اندازهگیری و با گروه کنترل (نرمال سالین ۱۰ml/kg) مقایسه گردید. همان طور که در نمودار ۱ مشاهده می شود، دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره دارای حداکثر اثر ضد دردی بوده و تمامی دوزهای عصاره درهمه زمانها نسبت به گروه کنترل دارای اختلاف معنی دار



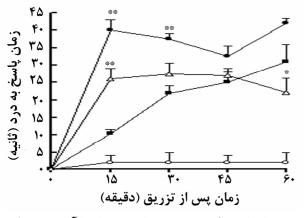
نمودار ۱: رابطه ۱ ثر ضددردی دوزهای مختلف عصاره سورنجان بـر حسب زمان در موش سوری با روش هات پلیت.

زمان پس از تزریق (دقیقه)

به هر گروه از موشها نرمال سالین به میـزان ۱۰ ml/kg و یـا دوزهای mg/kg ۰ (□)، ۰mg/kg ۱ (■) و یا ۲۰۰mg/kg (△) از عصاره پر کوله به صورت داخل صفاقی تزریـق گردیـده اسـت. هـر نقطه نمایانگر میانگین±خطای معیار حداکثر اثـر ضـد دردی در ۲ موش میباشد. **: ۱ ۰ / ۰ p اختلاف معنی دار نسبت به گروه عصاره

مقایسه اثر ضد دردی مؤثرترین دوز عصاره متانولی حاصل از روش پر کولـه بـا مـرفين و آسـپرين در آزمـون هات پلیت: اثرات ضد دردی مؤثر ترین دوز عصاره (mg/kg ۱۰۰) بــا دوز mg/kg از آســـپرين و دوز ۲/۵ mg/kg از مرفین مقایسه گردید. همان طور که در نمودار ۲ مشاهده می شود، اثر ضد دردی عصاره در زمانهای ۱۵ و ۳۰ دقیقه به طور معنیدار (p<٠/٠١) کمتر از مرفین و در زمان ۱۵ دقیقه کمتـر از آسـپرین (p<٠/٠١) اسـت. حـداکثر اثـر ضـد دردی عصاره، مرفین و آسپیرین در دقیقه ۶۰ ایجاد شده و تفاوت معنی داری بین اثر ضد دردی عصاره و مرفین مشاهده نشد در

بیشتر از آسپرین میباشد.



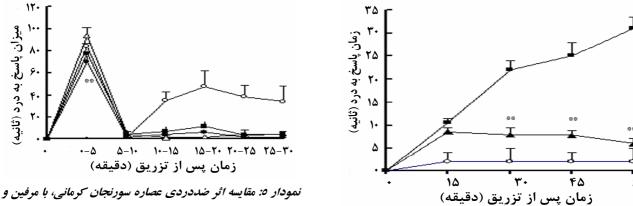
نمودار ۲: مقایسه ۱ ثر ضد دردی عصاره سورنجان با آسپرین و مرفین بر حسب زمان در موش سوری با روش هات پلیت.

به هر گروه از موشها نرمالسالین به میزان ۱۰ml/kg و یا دوزهای ۱۰۰mg/kg از عـصاره(■) و یـا مـرفین ۲/omg/kg (●) یـا آسپرین با دوز (Δ) au۰۰mg/kg) تزریـق گردیـده اسـت. هـر نقطـه نما یانگر میانگین ± معیار حداکثر اثر ضددردی در ۲ موش میباشد.

*:p<-/ ماختلاف معنى دار نسبت به گروه عصاره **: p<+/٠/ اختلاف معنى دار نسبت به گروه عصاره

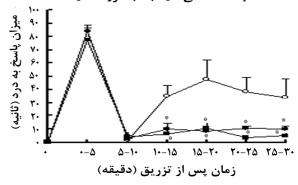
بررسی اثر مؤثر ترین دوز عصاره در حفضور نالوکسان در آزمون هات پلیت: نالوکسان با دوز mg/kg به عنوان آنتاگونیست گیرندههای اوپیوییدی به صورت SC به پشت گردن موش تزریق گردید. بعد از گذشت ۵ دقیقه از تزریق نالوکسان، مؤثرترین دوز عصاره ۱۰۰mg/kg به صورت داخـل صفاتی تزریق شد. طبق نمودار ۳، نالوکسان در تمامی زمانها به جز ۱۵ دقیقه باعث کاهش اثر ضد دردی عصاره شده است .(p<•/• \)

برسی اثر ضد دردی دوزهای مختلف عصاره متانولی حاصل از روش پرکوله در آزمون فرمالین: عصاره سورنجان کرمانی با دوزهای ۵۰ و۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، بـه صـورت داخل صفاقی تزریق و ۱۵ دقیقه بعد فرمالین به صورت SC به کف پای موشها تزریق شد. همانطور که در نمودار ۴ مشاهده می گردد، هر دو دوز عصاره از زمان ۱۵-۱۰ دقیقه بـه بعد دارای اثر ضد دردی معنیداری (p<٠/٠۵) نسبت به گروه کنترل میباشند. از دوز ۲۰۰mg/kg به دلیل بروز عوارض سمی صرف نظر گردید.



نمودار ۳: رابطه اثرات ضددردی عصاره سورنجان کرمانی در حضور نالو کسان، بر حسب زمان در موش سوری با روش هات پلیت. به هر گروه از موشها نرمالسالین به میزان Ml/kg ا(O) و یا دوز ۱۰۰mg/kg از عصاره () و یا دوز۱۰۰mg/kg عصاره به همراه £ mg/kg از نالو کسان (۱) تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین± خطای معیار حداکثر اثر ضد دردی در ۲ موش *مى باشد.*

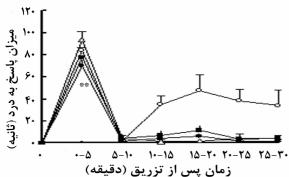
**: p<•// اختلاف معنی دار نسبت به گروه عصاره



نمودار ٤: رابطه اثرات ضددردی دوزهای مختلف عصاره سورنجان کرمانی، بر حسب زمان در موش سوری با آزمون فرمالین. به هر گروه از موشها نرمالسالین بمیزان ۱۰ ml/kg و یا دوزهای ۰۰mg/kg (●) از عصاره و ۱۰۰mg/kg (■) به صورت داخل صفاقی ۱۵ دقیقه قبل از فرمالین، تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین ± خطای معیار مدت زمان پاسخ گویی به اثر دردزایی فرمالین در ۲ موش میباشد.

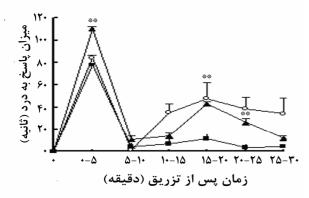
*:p<0/00 اختلاف معنى دار نسبت به گروه كنترل

مقایسه اثر ضد دردی مـؤثرترین دوز عـصاره پرکولـه بـا آسپرین و مرفین در آزمون فرمالین: به دو گروه از موشها به ترتیب دوزهای ۲/۵ mg/kg از مرفین ۳۰۰mg/kg از آسـپرین تزریق و اثرات ضد دردی آنها با گروه کنترل و دوز mg/kg ۱۰۰ از عصاره مقایسه گردید. همانطور که در نمودار ۵ مشاهده می شود، اثر ضد دردی آسپرین و مرفین در هیچ یک از زمانها با دوز مؤثر عـصاره ۱۰۰mg/kg، در فــاز دوم آزمــون فرمالین دارای اختلاف معنی دار نیستند.



آسپرین بر حسب زمان در موش سوری با آزمون فرمالین. به هر گروه از موشها نرمال سالین به میزان ۱۰ml/kg (■) و یا دوز ۱۰۰mg/kg از عصاره (O) یا مرفین ۲/٥mg/kg (●) یا آسیرین با دوز Δ ۳۰۰mg/kg به صورت داخل صفاقی ۱۵ دقیقه قبل از فرمالین، تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین ± خطای معیار مدت زمان پاسخ گویی به اثر دردزایی فرمالین در ۲ موش می باشد. **: ۱ /۰/۰ اختلاف معنی دار نسبت به گروه عصاره

بررسی اثر دردی میؤثر ترین دوز عیصاره در حیضور **نالوکسان در آزمون فرمالین**: به یک گروه از موشها ابتـدا نالوکسان با دوز ۴mg/kg به عنوان آنتاگونیـست گیرنـدههـای اوپیوییدی 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 ۵-۰، ۲۰-۱۵، ۲۵-۲۰ دقیقه به طور معنیدار (p<٠/٠١)، اثر ضددردی عصاره را کاهش داده است.



نمودار ۱: رابطه اثرات ضددردی عصاره سورنجان کرمانی در حضور نالو کسان، بر حسب زمان در موش سوری با آزمون فرمالین. به هر گروه از موشها نرمالسالین به میزان O)۱۰ml/kg) و یا دوز ۱۰۰mg/kg از عصاره (■) و دوز ۱۰۰mg/kg از عصاره به همراه mg/kg از نالو کسان (۱) تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین ± خطای معیار مدت زمان پاسخ گویی به اثر دردزایی فرمالین در ۲ موش می باشد. **: ۱ p<٠/٠ اختلاف معنی دار نسبت به گروه عصاره

ىحث

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 میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره متانولی این گیاه در آزمون هاتپلیت اثر ضد دردی معنی داری نسبت به گروه کنترل ایجاد نموده است (p<٠/٠١). دوز ۱٠٠mg/kg به عنوان مؤثر ترین دوز در نظـر گرفتـه شـد کـه در زمـان 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]، لـذا به نظر می رسد که حداقل قسمتی از اثرات ضد در دی عصاره گیاه سورنجان کرمانی، از طریق مکانیسمهای مرکزی واسطه گری شود. به دنبال آزمون هاتیلیت دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره در آزمـون فرمـالین مـورد بررسی قرار گرفت. دوز ۲۰۰mg/kg با وجود اثر ضد دردی مناسب در آزمون هاتپلیت، به دلیل بروز عوارض سمی نظیر اسهال و خواب آلودگی 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 ۳۰-۹۰ دقیقه طول می کشد. تزریق زیر جلدی فرمالین باعث ایجاد یک نوع درد دو فازی می گردد. فاز اول درد را فاز حاد می گوییم که در ۵ دقیقه اول بعد از تزریق ایجاد شده و در دقیقههای ۱۰–۱۵ پس از تزریق کاهش مییابد. به دنبال آن فاز دوم درد آغاز می شود که فاز تونیک نام دارد و یک درد پایدار متوسط در ۶۰-۲۰ دقیقه پس از تزریق را شامل می گردد. فاز اول درد به دلیل تحرک مستقیم گیرندهها و فاز دوم به دلیل تثبیت پاسخ التهابي حاصل مي شود [١٩،٢۵،٢٧،٢٨].

دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلـ وگرم عـصاره متـانولی سورنجان کرمانی در زمانهای ۱۰-۱۰ دقیقه به بعـد اثـر ضـد دردی قابل توجهی نسبت به گروه کنترل ایجـاد نمـوده اسـت (p<-/-۵)، بنابراین به نظر مـیرسـد عـصاره ایـن گیـاه 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 بادرنجبویه [۵] نتایج تحقیقات، نشانگر اثر ضد دردی عصاره متانولی گیاهان مذکوردر فاز دوم درد بوده که با نتایج این تحقیق مشابهت دارد. مقایسه اثر ضد دردی دوز ۱۰۰mg/kg عصاره با مرفین ۲/۵mg/kg در فاز دوم آزمون فرمالین، نشان میدهد که در هیچ یک از زمانها اثر ضددردی عصاره با مرفین دارای اختلاف معنی دار نیست. در آزمون هاتپلیت، صرفاً در زمانهای ۱۵ و ۳۰ دقیقه اثر ضددردی عصاره به طور معنی دار (p<٠/٠١) کمتر از مرفین بود و در سایر زمانها این اختلاف معنی دار نبود که نشان دهنده وجود اثر ضد دردی قابل توجه در گیاه سورنجان کرمانی است. مقایسه اثر ضد دردی مـؤثرترین دوز عـصاره (۱۰۰mg/kg) بـا آسپرین ۳۰۰mg/kg در فاز دوم آزمون فرمالین نشان میدهـد که در هیچ یک از زمانها اختلاف معنی دار وجود ندارد و اثر ضددردی 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 فرمالين فاز التهابي است [۴٬۲۷٬۲۸]، لذا احتمال دخالت عصاره گیاهی در روندهای التهابی تقویت می شود [۲۸]. در آزمون هاتپلیت اثر ضد دردی عصاره در دقیقه ۱۵ با اخـتلاف معنیدار (p<٠/٠١) کمتر از آسپرین و دردقیقه ۶۰ که حداکثر اثر ضد دردی عصاره است، با اختلاف معنی دار (p<٠/٠۵) اثر ضد دردی عصاره بیشتر از آسپرین میباشد. در آزمون هات پلیت درمان قبلی موشها با نالوکسان ۴mg/kg، باعث کاهش اثر ضد دردی عصاره شده است. با توجه به اینکه در آزمون هات پلیت، مکانیسمهای مرکزی کنترل درد مطرح هستند [۲۴]، احتمال دخالت گیرندههای اوپیوییدی در اثرات ضد دردی عصاره این گیاه، وجود دارد [۱۳،۱۴،۲۴]. در آزمون فرمالین نیز درمان قبلی موشها با نالوکسان باعث کاهش اثر ضددردی عصاره گردیده، بنابراین احتمال دخالت گیرندههای اوپیوییدی در اعمال اثر ضد دردی عصاره، گیاه سورنجان كرماني تقويت مي گردد. مواد مؤثره گياهان اين گونه، كلشي سین، کلشی سئین و دمه کولسین ذکر گردیـده [۱۰،۱۱،۱۲] که به نظر می رسد ماده مؤثره مهم و اصلی گیاه، کلشی سین

تشکر و قدردانی

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

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

منابع

- [۱] آیینه چی ی: مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران. انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۷۰، صفحات: ۷-۴۶.
- [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: ۱۰۸ ۱۰۸.
- [۴] حیدری م، اسدی پور ع، غیور م: بررسی اثر ضد دردی و زخم زایی عصاره متانولی گل بابونه. مجله دانشگاه علـوم پزشـکی قـزوین، 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 اسـتیل سالیـسیلیک اسـید بـا استفاده از آزمون فرمالین در موش سوری. مجله علمی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اهواز، شـماره ۲۹، اسـفند ۱۳۷۹، صـفحات: ۲۵–۳۵.
 - [8] 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: ۲۱-۲۱.
- [۸] محبی ص: بررسی اثر ضد دردی عصاره متانولی حنا (Lawsonia inermis) با آزمون فرمالین و هاتپلیت و اثـرات اولـسروژنیک 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. انتشارت 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 PhD¹*, 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 Physciology 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