

اثر عصاره آبی برگ سنجد بر درد در موش صحرایی نر

محمد صوفی آبادی¹، محمد حسین اسماعیلی¹، هاشم حق دوست¹، نعمت اله غیبی²

1- استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

2- استادیار، گروه بیوفیزیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

یافته / دوره دهم / شماره 1 / بهار 87 / مسلسل 35

چکیده

دریافت مقاله: 86/10/18، پذیرش مقاله: 86/12/3

Ø مقدمه: مهار درد از دیرباز مورد توجه دانشمندان علوم پزشکی بوده و همواره سعی شده تا داروهای موثرتری که عوارض جانبی کمتری هم داشته باشند معرفی گردند. در طب سنتی ایران برای گیاه سنجد آثار ضد التهاب و ضد درد عنوان شده است. در این مطالعه اثر ضد دردی عصاره آبی برگ گیاه سنجد مورد بررسی قرار گرفت.

Ø مواد و روش‌ها: برای بررسی اثر تسکینی گیاه سنجد از 35 سر موش صحرایی نر استفاده شد. پس از تهیه عصاره آبی اثر ضد دردی تزریق صفاقی دوزهای 25، 50، 100 میلی گرم بر کیلوگرم وزن از این عصاره در مقایسه با داروی ضد درد غیر استروئیدی دیکلوفناک با دوز 5 میلی گرم بر کیلوگرم از طریق تست فرمالین مورد مطالعه قرار گرفت.

Ø یافته‌ها: عصاره برگ سنجد بصورت وابسته به دوز اثر تسکینی مناسبی بر هر دو مرحله درد ناشی از تزریق فرمالین داشت و این اثر، از اثر ضد دردی داروی دیکلوفناک قویتر بود

Ø بحث و نتیجه‌گیری: اثر ضد دردی گیاه به دو طریق مرکزی و محیطی اعمال می‌گردد. برگ سنجد حاوی مواد موثره ترپنوئید و فلاونوئید است و بخشی از اثر ضد دردی این گیاه ناشی از اثر ضد التهابی مواد فوق الذکر می‌باشد.

Ø کلید واژه‌ها: سنجد، درد، تست فرمالین

آدرس مکاتبه: قزوین، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

پست الکترونیک: mohasofi@yahoo.com

مقدمه

درد اغلب نشانه ورود و گاه پیشرفت یک آسیب در بدن است و به عنوان یک عامل آزار دهنده شناخته می‌شود که برای فرد قابل تحمل نیست. از اینرو به دنبال راهکارهایی بر می‌آید تا به رفع آن نائل شود. در واقع درد یک واکنش حفاظتی علیه تهدید یا آسیب فوری به حساب می‌آید (1، 2).

انواع مختلف محرکهای قوی و آسیب رسان مانند حرارت مواد شیمیایی و تحریکات مکانیکی می‌توانند فیبرهای حسی درد را تحریک کنند. این تحریکات باعث افزایش میزان تخلیه نورونهای آوران درد متناسب با لگاریتم شدت محرک می‌شوند. آسیب بافتی علاوه بر فعال سازی گیرنده های درد یکسری از پاسخهای موضعی التهابی را نیز برآه می‌اندازد که در آن سلولهای ایمنی و واسطه های متعددی نقش دارند. این مواد آزاد شده خود می‌توانند موجب تحریک گیرنده ها و یا حساس شدن آنها شده و سرعت تخلیه پایه را زیاد و آستانه تحریک آنها را کم کنند و باعث تقویت ورودیهای درد گردند (3، 4، 5، 6).

همواره بشر در جستجوی راههایی بوده است تا درد را مهار و یا تخفیف بخشد، مصرف مواد شیمیایی و گیاهی یکی از این روشهاست که قدمتی کهن دارد، عوارض جانبی بسیار زیاد داروهای شیمیایی و گرانی آنها موجب گرایش مجدد مردم به طب گیاهی شده است (7، 8، 9، 10). از آنجایی که داروهای رایج ضد درد دارای آثار جانبی فراوان هستند مثلاً اویپوئیدها ایجاد وابستگی، مقاومت و سوء استفاده کرده و یا ضد دردهای غیر استروئیدی عوارض گوارشی و کلیوی و عصبی ببار می‌آورند، لذا تحقیقات متعددی برای دستیابی به ترکیبات مطمئن تر ضد درد در دنیا پایه گذاری شده است یکی از راههای دستیابی به ترکیبات جدید داروئی انجام مطالعات تجربی بروی گیاهان است (11، 12). مصرف گیاهان دارویی یا طب سنتی در جهان و از جمله ایران رو به توسعه است (8، 9). یکی از گیاهانی که در طب سنتی ایران کاربرد های فراوانی داشته و برای میوه، صمغ و برگهای آن نیز خواص درمانی فراوانی ذکر

شده است گیاه سنجد¹ بوده که میوه و برگهای این گیاه حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فلاونوئیدی، ترپنوئید و سیتواسترول می باشد (13، 14، 15، 16). تحقیقات نشان داده است که برخی از ترکیبات فلاونوئیدی و سیتواسترول واجد اثرات ضد دردی و ضد التهابی هستند (17، 18). بنابراین میوه و برگهای این گیاه نیز می‌توانند اثر ضد درد و ضد التهاب داشته باشد. در همین راستا تحقیق حاضر به منظور اثبات خاصیت ضد دردی عصاره برگ گیاه سنجد با استفاده از تست تحمل درد فرمالین در جنس نر موش صحرایی انجام گردید.

مواد و روشها

در این مطالعه تجربی از 35 موش صحرایی نر از نژاد اسپراوگ داوولی با محدوده وزنی 250-300 گرم استفاده شد. این جانور از انستیتوی پاستور خریداری و در دمای اتاق با تهویه مناسب و دوره نوردی تاریکی - روشنی 12/12 ساعت نگهداری شدند، دسترسی آنها نیز به آب و غذا نیز برای آنها آزاد بود.

روش تهیه عصاره:

برای تهیه عصاره ابتدا برگهای گیاه سنجد بطور تازه از منطقه دشت قزوین تهیه شده بود در درجه حرارت آزمایشگاه خشکانده شده، سپس 100 گرم از آن آسیاب شد. روش عصاره گیری آبی بدین صورت بود که ابتدا آب مقطر را به داخل یک بشر 1 لیتری ریخته و روی شعله قرار داده تا شروع به جوشیدن کند، سپس 80 گرم پودر برگ سنجد به آرامی به 400 میلی لیتر آب مقطر در حال جوشش اضافه شده و جوشش 15 دقیقه ادامه یافت، در طول مدت جوشش با همزن شیشه ای محتوی بشر بهم زده شد، پس از اتمام 15 دقیقه محتویات بشر با کمک فیلتر کاغذ صافی و قیف پوشش صاف گردید. سپس عصاره حاصله به درون ظرف شیشه ای منتقل و درون بن ماری با دمای 40-50 درجه قرار داده و آبگیری گردید

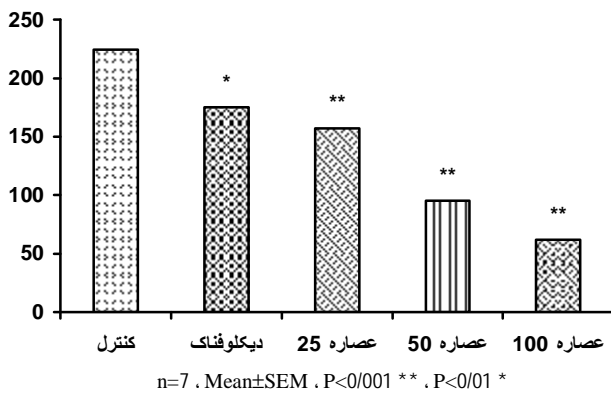
1. *Elaeagnus angustifolia*.L

در نهایت داده های جمع اوری شده در گروههای مختلف آزمون (در هر دو مرحله اول و دوم بطور جداگانه) با آزمون های آنالیز واریانس یک طرفه و تکمیلی تحلیل گردید. در کلیه آزمون ها حداکثر خطای 5% پذیرفتنی بود. کلیه داده ها به صورت میانگین نشان داده شده است.

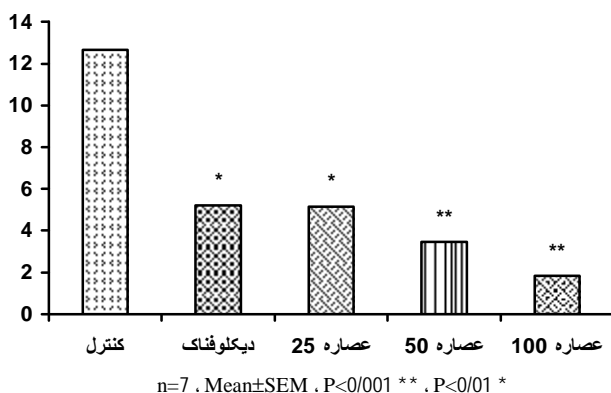
یافته ها

1- تاثیر عصاره در دوزهای مختلف بر مرحله حاد درد در موشهای نر:

عصاره سنجد در دوز 100 و 50 و 25 میلی گرم بر کیلوگرم وزن مدت زمان بالا نگهداشتن و تعداد دفعات لیسیدن پا را کاهش داد (هر سه $p < 0/001$). ضمناً داروی دیکلوفناک نیز مدت زمان بالا نگهداشتن و تعداد دفعات لیسیدن پا (هر دو $p < 0/01$) را در موشها کم کرد (نمودارهای 1 و 2).



نمودار شماره 1- مدت بالا نگهداشتن پا پس از تزریق فرمالین (مرحله حاد) در گروههای مختلف آزمون



(پس از تبخیر آب آن) پودر عصاره به شیشه درپوش دار منتقل و در یخچال 10- نگهداری گردید. گروههای آزمون:

حیوانات به طور تصادفی به پنج گروه هفت تایی تقسیم شدند: 1- گروه کنترل: که به آنها سرم نمکی با حجم 0/5 میلی لیتر تزریق شد 2- گروهی که آمپول دیکلوفناک با دوز 5 میلی گرم بر کیلوگرم وزن دریافت کردند 3- گروهی که عصاره برگ سنجد با دوزهای 20 میلی گرم بر کیلوگرم وزن دریافت کردند 4- گروهی که به آنها عصاره برگ سنجد با دوز 50 میلی گرم بر کیلوگرم وزن تزریق گردید 5- گروهی که عصاره برگ سنجد با دوز 100 میلی گرم بر کیلوگرم وزن دریافت کردند.

روش اجرای آزمون:

به هنگام آزمایش با توجه به دوز مورد نظر، پودر عصاره با سرم فیزیولوژی تا حد لازم رقیق و با حجم 0/25 میلی لیتر به ازای هر 100 گرم به درون صفاق حیوانات تزریق شد. از داروی دیکلوفناک (ساخت شرکت مرک) با دوز 5 میلی گرم بر کیلوگرم هم به عنوان کنترل مثبت استفاده شد (14).

یکساعت قبل از آزمایش، حیوانات به منظور عادت کردن با شرایط محیط به محل آزمایش منتقل شده و جهت مشاهده بهتر در جعبه مخصوص از جنس پلکسی گلاس در ابعاد 30×30×30 گذاشته شدند.

نیم ساعت پس از تزریق داخل صفاقی سرم نمکی یا دیکلوفناک یا عصاره به سه گروه مختلف موشها، 25 میکرولیتر محلول فرمالدهید 2% به زیرپوست کف پای راست هر حیوان تزریق و حیوان به جعبه مخصوص برگردانده شد و آنگاه رفتار جانور، یعنی مدت زمان بالا نگهداشتن پا (به ثانیه) و تعداد دفعات لیسیدن کف پا، هر 5 دقیقه و در مجموع به مدت 45 دقیقه در پاسخ به درد ایجاد شده مشاهده و ثبت گردید. 10 دقیقه ابتدای هر تست به عنوان فاز اول (درد حاد) و میانگین 15-45 دقیقه آزمون به عنوان فاز دوم (درد مزمن) محسوب شد (19).

در مجموع، هر سه دوز مورد استفاده از عصاره برگ سنجد درد را در هر دو فاز آزمون فرمالین بویژه مرحله دوم آن تخفیف بخشید. این اثر ضد دردی بصورت وابسته به دوز، مناسب و اغلب قویتر از دیکلوفناک بود.

بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه که براساس استفاده از تست فرمالین صورت گرفت نشان داد که برگ گیاه سنجد دارای موادی با آثار قابل توجه ضد درد است. آزمون فرمالین مدلی است برای ارزیابی درد مزمن که توسط دنیس و دابوسون ابداع شده است (20، 21). این تست دارای دو مرحله مشخص درداست که مرحله اول آن پس از تزریق زیر جلدی به کف پای حیوان شروع شده و بمدت 5-10 دقیقه ادامه داشته و سپس فروکش می کند و در این مرحله احتمالاً تحریک مستقیم گیرنده های درد نوع C مولد درد است (22).

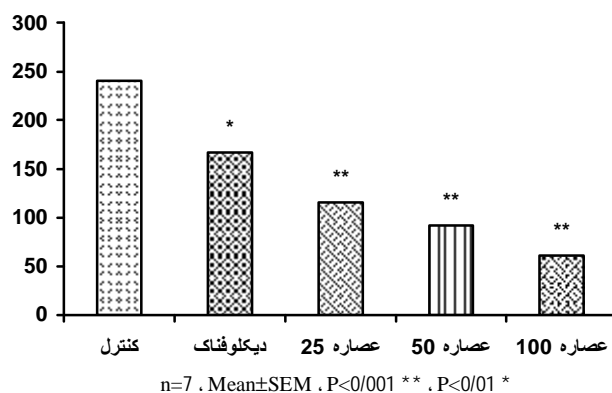
در مرحله دوم درد شدیدتری تقریباً 15 دقیقه پس از تزریق بروز و تا حدود یک ساعت ادامه می یابد که احتمالاً قسمتی از آن ناشی از رهائش میانجی های التهابی محیطی از قبیل هیستامین، پروستاگلاندین و سایر اتاکوئیدها است و بخش دیگر آن نیز در اثر حساس شدن نورونهای مرکزی مرتبط با درد در مرحله اول آزمون ایجاد می شود (23، 24). مصرف داروهای ضد درد غیر استروئیدی از قبیل آسپرین و دیکلوفناک و... که عمدتاً از طریق محیطی درد را تسکین می دهند دلیل دیگری بر نقش پروستاگلاندین ها در فرایند درد است چون این داروها اثر خود را از طریق مهار آنزیم سیکلواکسیژناز و تولید پروستاگلاندین ها اعمال می کنند، اگر میزان درد در هر دو مرحله کم شود نشان دهنده این است که دارو دارای اثر مرکزی نیز هستند (23، 25).

با توجه به یافته های این تحقیق، از آنجایی که عصاره برگ گیاه سنجد درد را در هر دو فاز بویژه مرحله دوم کاهش می دهد بنابراین این مواد موثر در آن دارای آثار محیطی و مرکزی اند که البته اثر محیطی آنها بارزتر است. داروهای دارای اثر محیطی

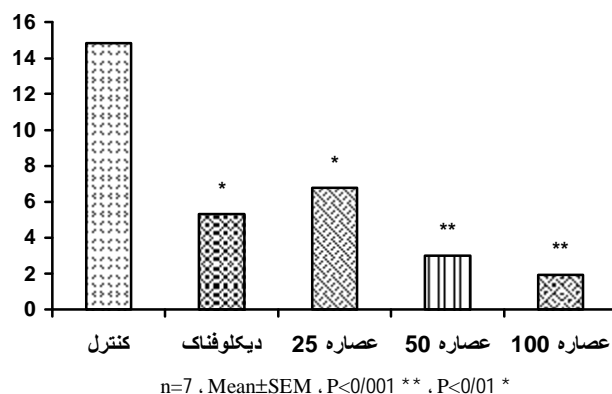
نمودار شماره 2- دفعات لیسیدن پا پس از تزریق فرمالین (مرحله حاد) در گروه های مختلف آزمون

2- تاثیر عصاره در دوزهای مختلف بر مرحله مزمن در موشهای نر:

عصاره سنجد در هر سه دوز مورد استفاده تعداد دفعات لیسیدن پا را کاهش داد ($p < 0/001$). بعلاوه اینکه در دوز 25 ($p < 0/01$) و نیز در دوزهای 50 و 100 میلی گرم بر کیلوگرم (هر دو $p < 0/001$) از دفعات لیسیدن پا کاست. همچنین داروی دیکلوفناک نیز هر دو پاسخ رفتاری مربوط به درد ناشی از تزریق زیر جلدی فرمالین را کاهش داد ($p < 0/001$) (نمودارهای 3 و 4).



نمودار شماره 1- مدت بالا نگهداشتن پا پس از تزریق فرمالین (مرحله مزمن) در گروه های مختلف آزمون



نمودار شماره 2- دفعات لیسیدن پا پس از تزریق فرمالین (مرحله مزمن) در گروه های مختلف آزمون

عمدتاً از طریق کاهش التهاب عمل می کنند (19، 23). گیاه سنجد دارای مقادیر قابل توجهی از فلاونوئیدها، ترپنوئیدها، کارواکرول و سیتواسترول می باشد (14، 15، 16، 17). که از این میان اثر مهاری فلاونوئیدها بر سنتز پروستاگلاندین ها بطور قطع مشخص شده است (18، 26). به این دلیل این گیاه می تواند عملکرد محیطی ضد درد هم داشته باشد و احتمالاً مهم ترین ماده ضد درد موجود در عصاره آن فلاونوئیدها هستند (14، 27). از آنجایی که عصاره آبی سنجد در مقادیر مورد استفاده، بطور وابسته به دوز توانایی قابل توجهی در تخفیف درد داشت بطوریکه این اثر در مقایسه با داروی رایج دیکلوفناک با دوز 5 میلی گرم بر کیلوگرم وزن قویتر بود، ممکن است که این ترکیبات موثرتر از مواد موجود در داروی دیکلوفناک باشند.

این تحقیق نشان داد که برگهای گیاه سنجد حاوی ترکیبات ضد درد (با اثر مرکزی و محیطی) بوده و احتمالاً بخش عمده ای از آثار ضد دردی آن از مهار التهاب ناشی می گردد. با توجه به این یافته ها مطالعات بیشتری در زمینه استخراج ماده موثره و شناخت مکانیسم عمل دقیق و عوارض و میزان سمیت آن ضرورت دارد.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین و نیز آقایان سلطانی، رشوند و عباسی و خانم مسلمی که در انجام این مطالعه ما را یاری کردند، کمال تشکر و امتنان را داریم.

References

1. Chapman CR, Garvin J. The nature of suffering. *Lancet*, 1999; 2: 572-575
2. Guyton RC. Text book of medical physiology, 10 Th ed. chechill Livingstone, 2000: 594-602
3. Carlton SM, Coggeshall RE. Nociceptive integration: does it have a peripheral component? *Pain Forum*, 1998; 7: 71-78
4. Yunjong Lee, Chang-Hun Lee, Uhtaek Oh. Painful Channels in Sensory Neurons, *Mol. Cells*, 2005, 20: 315-324
5. Devor M, campbel JN. Pain mechanisms and pain syndromes, Canada LASP press, 1996: 103-112
6. Besson JM. The neurobiology of pain. *Lancet*, 1995, 353: 1610-1615
7. Elisabetsky E, Amador TA. Analgesic activity of psychotria colorata muellarg alkaloids, *J Ethnopharmacol*, 1995: 77-83
8. Emami A, Shams MR, Nekouie N, Herbal therapy, the treatment of disease through herbal medicine, 1th ed. Tanine, 2002: 11
9. Rojhan MS. The health and treatment of disease with herbal therapeutics. 1th ed. Tannin, 1999: 6
10. Hardwicke CJ. WHO and pharmaceutical industry, Common areas of interesting and differing views, *Adverse Drug React Toxicol Rew* 2002, 21(1-2): 51-99
11. Dehpour AR, Mousavie K. The basic of pharmacologic sciences and drugs side effects, 1th ed. Tanine, 1992: 10-30
12. Walker JS, Levy G. Effect of multiple dosing on the analgesic action of diflunizal in rats. *Life Sci*, 1990, 46: 737-742
13. Amin Gh. Herbal medicine, the Iranian folkloric drugs, 1 Th ed. Ministry of health Deputy of research, 2001: 101-106
14. Hosseinzadeh H, Rahimi R. Anti-Inflammatory effects of *Elaeagnus angustifolia* fruits in mice and. *Irn J Med Sci* 1999; 24(3&4): 144-147
15. Dembinska-Migas W, Gill S. Flavonoids in leaves of *Elaeagnus angustifolia* L.: *Pol J Pharmacol Pharm.* 1973; 25(6): 599-606
16. Goncharova NP, Plagar VN, Rashkes Y. Oxygenated fatty acids of seeds of *Elaeagnus angustifolia*. *Khim Prir Soedin*, 1994; 31:715-719
17. Gupta MB, Nath R, Srivastava N, et al. Anti-inflammatory and antipyretic effects of sitosterol. *Planta Med*, 1979; 3: 157-163
18. Muthiah NS, Vijayasekaran V. Anti-inflammatory activity of flavone and its methoxy derivative: structure activity study. *Ind J Pharmac Sci*, 1993; 55: 180-183
19. Ramezani M, Hosseinzadeh H, Daneshmand N. Antinociceptive effect of *Elaeagnus angustifolia* fruit seeds in mice. *Fitoterapia*. 2001; 72(3): 255-62
20. Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, mepridine and brain stem stimulation in rat and cats. *Pain*, 1977, 4: 161-174
21. Shibata M, Okhubo T. Modified formalin test: characteristic biphasic response, *Pain*, 1989; 38: 347-352
22. About FV, Franklin KB. The formaline test: scoring properties of the first and second phases of the pain response in rats, *Pain*, 1995; 60: 91-102
23. Hunskaar S, Hol K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non- inflammatory pain, *Pain*, 1987, 30: 103-114

24. Coderre TJ, Melzack R. Central nervous system plasticity in the tonic pain response to subcutaneous formalin injection, *Brain Res.* 1990; 535: 155-158
25. Levine J, Taiwo Y. Inflammatory pain, *Text book of pain*, wall, PD, Melzack. Chechill Livingstone .1994: 45-56
26. Alcaraz MG, Hoult RS. Action of flavonoids and the novel anti-inflammatory flavone, Hypolaetin- 8- Glucoside, on prostaglandins biosynthesis and activation. *Biol Pharmacol*, 1985; 34: 2477-2482
27. Ahmadiani A, Hosseiny J, Semnani S, et al. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Elaeagnus angustifolia* fruit extract. *J Ethnopharmacol*, 2000; 72(1-2): 287-292